

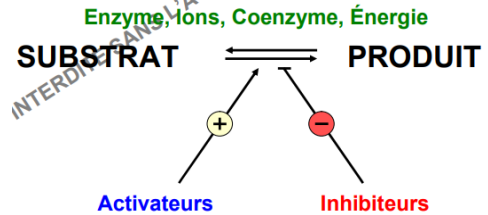
ENZYMO 3

LES EFFECTEURS DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

Les **effecteurs** sont des composés chimiques qui, en se liant à **l'enzyme**, **modifient la vitesse de réaction** :

- S'ils **l'accélèrent** : **Activateurs**
- S'ils la **diminuent** : **Inhibiteurs**

Plusieurs processus sont à la base du **contrôle de l'activité des enzymes** : **processus physico-chimique** ou **processus non physico-chimique**



PROCESSUS PHYSICO-CHIMIQUE

L'**activité d'une enzyme** dépend :

1. **Concentration en enzyme** (déterminer **génétiquement**)

Plus la **[Enzyme]** *augmente*, plus la **vitesse de la réaction** *augmente*

2. **Localisation** (tissulaire, cellulaire, intra/extra cellulaire), cela concerne :
 - les fonctions de **synthèse** et de **dégradation** des enzymes
 - leur **trafic intracellulaire** et/ou leur **sécrétion**

Exemple : **La Lactate Déshydrogénase LDH**

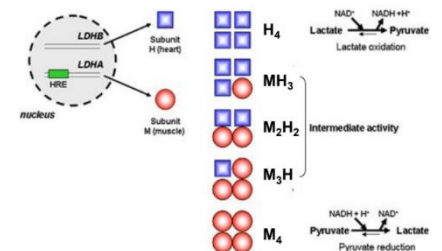
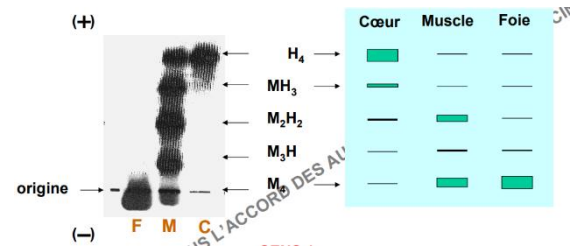
La **LDH** est une enzyme qui catalyse la transformation du **Pyruvate en Lactate** et inversement : c'est une réaction **réversible**, en condition anaérobie (sans O₂). Elle est un exemple **d'isoenzyme**.

*Qu'est-ce qu'une **isoenzyme** ?*

Les isoenzymes sont des **formes différentes d'une même enzyme** mais sont issues de **gènes différents**. Elles catalysent la **même réaction**, mais possèdent des **propriétés chimiques et physiques différentes entre elles**, elles ont notamment une **localisation tissulaire spécifique**. Elles ont donc : une **mobilité électrophorétique**, une **composition en acide aminé**, des **propriétés cinétiques** différentes.

Pourquoi ? Parce qu'elles résultent d'un **assemblage différent des sous unités**.

Pour la **LDH**, on retrouve **2 gènes différents** qui codent pour **2 sous-unités H et M**. Les chaînes H et M vont venir **s'assembler** entre elles, réalisant des **combinaisons** différentes. Chaque combinaison constitue une **isoenzyme**. → 5 isoenzymes sont donc possibles : H₄, H₃M, H₂M₂, HM₃, M₄.

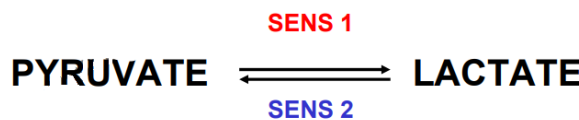


Chaque tissu est caractérisé par une **concentration prédominante** d'une **isoenzyme** : **M₄** dans le **foie** et **H₄** dans le **cœur**. → On peut donc **caractériser un tissu** seulement par la **présence de ces isoenzymes** : s'il y a un relargage de la forme **H₄** de la LDH il y a eu probablement un problème au niveau **cœur** (ischémie/infarctus).

En fonction du type **isoenzyme**, les **caractéristiques cinétiques** et **l'activité enzymatique** de ces sous-unités sont **différentes** :

Au niveau du muscle (M₄) :

- Km faible pour le pyruvate
- Vm maximal dans ce sens
- NON Inhibé par [pyruvate] élevé



Au niveau du cœur (H₄) :

- Km élevé pour le pyruvate
- Vm maximal dans ce sens
- Inhibé par [pyruvate] élevé

On voit bien qu'en fonction de l'assemblage des chaînes, les isoenzymes vont favoriser la réaction dans un sens plutôt que dans l'autre.

Les isoenzymes faites de mélanges de H et de M (MH3, M2H2, M3H) auront une activité **intermédiaire** : elles favoriseront de manière **équivalente** les deux sens de la réaction.

3. Environnement

✓ pH

Les variations de pH entraînent des **variations de conformation** de l'enzyme. Il existe un **pH optimal** pour lequel l'enzyme est dans une **conformation optimale** avec une **activité enzymatique maximale**.

Certaines enzymes fonctionnent uniquement à une plage de pH donné :

- **Pepsine** (pH acide)
- **Trypsine** (pH de 8)
- **Cholinestérase** (pH de 7)

4. Notion de Macroenzyme

Ce sont des **complexes de haut poids moléculaire** formés par l'association d'une **enzyme** avec une **macromolécule sérique** (= molécule que l'on retrouve dans le sang).

Explication pour comprendre : Le **foie** a pour rôle de **filtrer** le sang de tout ce qui ne devrait pas y être. On parle de **Clairance** pour décrire cette filtration sanguine hépatique : la Clairance est un **débit**, c'est le **volume sanguin filtré par unité de temps**. Cependant le foie ne peut **pas filtrer les macromolécules car elles sont trop grosses**.
Vous reverrez ça au S2 en pharma le sang du cul

Ducoup si l'enzyme se fixe à une **macromolécule sérique**, le complexe **macroenzyme** formé sera **trop gros** pour être filtré par le foie. Il ne sera **pas éliminé, restera dans le sang** et l'enzyme pourra continuer à exercer son **activité enzymatique**.

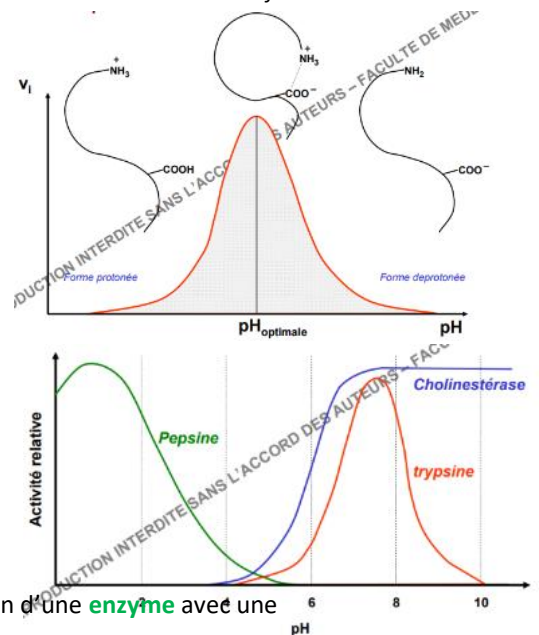
Ainsi la formation de **macroenzyme** engendre :

- Un **ralentissement de leur clairance**
- Une **élévation artificielle de l'activité de la macroenzyme**.

Pourquoi c'est important à connaître ? Car parfois on retrouve chez un patient des **activités enzymatiques élevées** qui ne sont **pas expliquées par une pathologie donnée**. Ceci s'explique par la formation de **macroenzyme**.

Il y a 2 types de macroenzyme :

MACROENZYME DE TYPE 1	MACROENZYME DE TYPE 2 :
<ul style="list-style-type: none"> - Les plus fréquents - Pouvant concerner la lipase, l'amylase, la phosphatase alcaline... - L'enzyme est associée à une immunoglobuline (Ig), le plus souvent de type G (IgG) et plus rarement de type A (IgA) ou de type M (IgM). <p>→ En général ce type de macroenzyme n'est pas associée à un état pathologique donné mais parfois elles peuvent être le reflet d'une pathologie auto-immune.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Pouvant concerner la créatine kinase, la gamma-glutamyltransférase... - L'enzyme est associée à une macromolécule : <ul style="list-style-type: none"> ○ Une molécule de la même enzyme → on parle d'autopolymérisation de l'enzyme. ○ Un médicament ○ Des lipoprotéines <p>→ A l'exception des médicaments, ces macroenzymes de type 2 sont souvent le signe de l'existence d'une pathologie hépatobiliaire.</p>

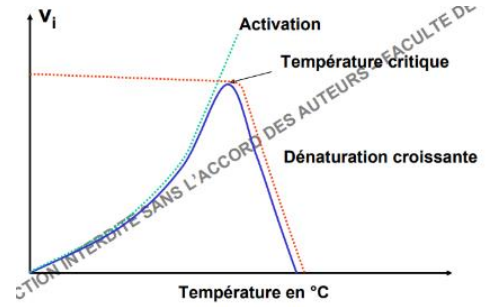


✓ **Température**

Une **modification de la température** engendre une **modification de la conformation de l'enzyme** dans l'espace.

- Si **T augmente** -> **Vitesse de réaction augmente**
- Passer un **certain seuil**, on parle de **température critique**, la température **dénature l'enzyme** = sa conformation 3D n'est plus optimale -> **vitesse de réaction diminue**

- ✓ **Cofacteurs** (ions, coenzymes)
- ✓ **Concentration en substrat** (cinétique + inhibition par excès de [S])



PROCESSUS NON PHYSICO-CHIMIQUE

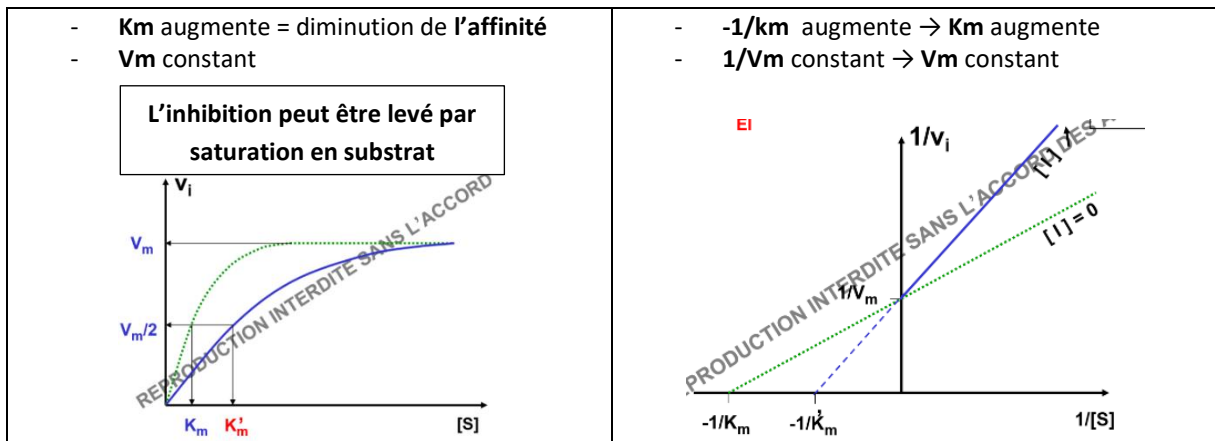
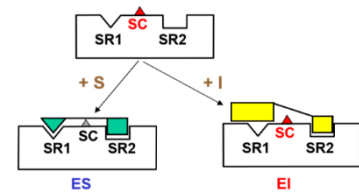
A. L'ACTIVITE D'UNE ENZYME PEUT ETRE CONTROLEE PAR DES AGENTS MODULATEURS OU ACTIVATEURS AGISSANT PAR DIVERS MECANISMES.

1. INHIBITEUR COMPETITIFS

Ils possèdent une analogie structurale avec le **substrat**

→ Ils se fixent sur le **même site**

Il y a création de **2 complexes** : **ES / EI**

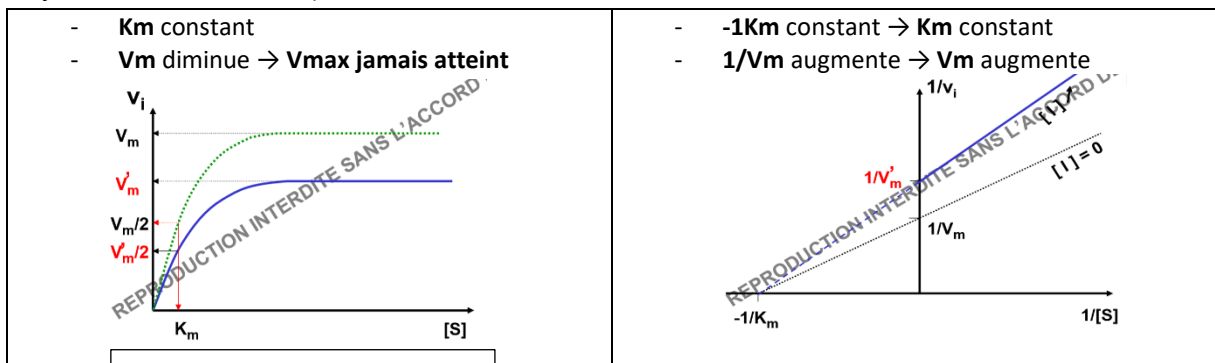
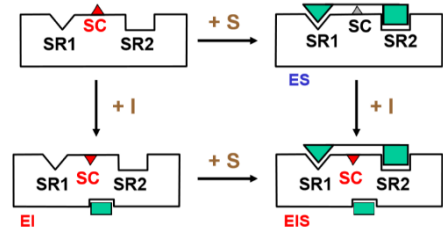


2. INHIBITEUR NON COMPETITIFS

L'inhibiteur ne se fixe **pas** sur le **même site de fixation** que le substrat, mais sur **un autre site**.

Il y a création de **3 complexes** : **ES / EI / EIS**

Il induit une **modification de la structure** du site actif et **bloque la transformation du substrat en produit** (mais le substrat peut toujours se fixer au site actif)

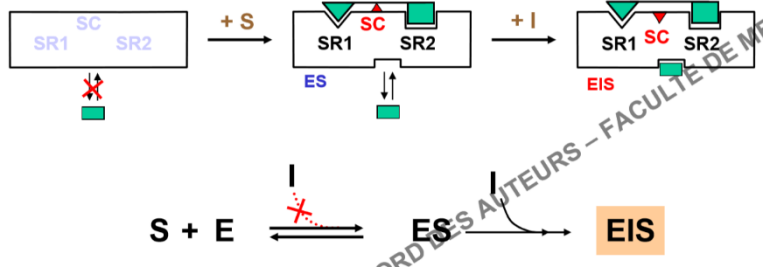


L'inhibition ne peut pas être levé par saturation en substrat

3. INHIBITEUR INCOMPÉTITIFS

La fixation se fait sur un **site différent** de celui du substrat : mais elle n'est réalisable qu'après la fixation du substrat.

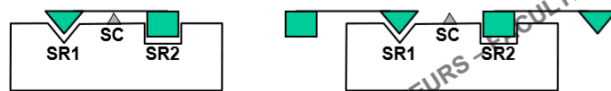
Il y a création de **2** complexes : **ES / EIS**



<ul style="list-style-type: none"> - Km diminue = augmentation de l'affinité - Vm diminue 	<ul style="list-style-type: none"> - $-1/k_m$ diminue \rightarrow Km diminue - $1/V_m$ augmente \rightarrow Vm diminue
---	--

4. INHIBITION PAR EXCES DE SUBSTRAT

L'**excès de substrat** entraîne une **saturation** des sites de l'enzyme, le **complexe ES** se fait mal entraînant l'**inhibition**.



Cette fixation imparfaite va inhiber l'enzyme et l'empêcher d'atteindre sa Vmax

<ul style="list-style-type: none"> - Km augmente - Vm diminue 	
---	--

Récap Les différents types d'inhibition enzymatique

	Vm	Km	LEVÉE	MODIFICATIONS
IC	\rightarrow	\uparrow	OUI	$K'm = Km \cdot (1 + \frac{[I]}{K_i})$
INC	\downarrow	\rightarrow	NON	$V'm = Vm / (1 + \frac{[I]}{K_i})$
I Inc	\downarrow	\downarrow	NON	$K'm = Km / (1 + \frac{[I]}{K_i})$ $V'm = Vm / (1 + \frac{[I]}{K_i})$

$(1 + \frac{[I]}{K_i})$ Inhibition élevée si $\left\{ \begin{array}{l} [I] \uparrow \\ K_i \downarrow \end{array} \right.$

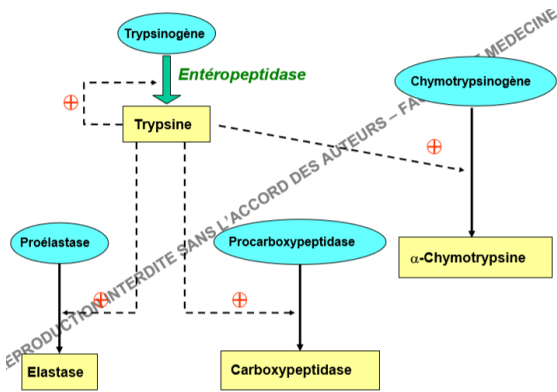
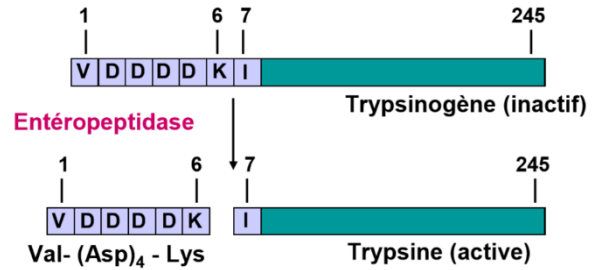
B. L'ACTIVITE ENZYMATIQUE PEUT ETRE CONTROLEE DE MANIERE IRREVERSIBLE PAR PROTEOLYSE MENAGEE

Les **zymogènes** ou **proenzymes** sont des **précurseurs protéiques** (enzymes, hormones) permettant leur **transport** ou leur **stockage** dans des **formes inactives**.

Ces précurseurs peuvent être facilement convertis en **formes actives** :

- De manière **irréversible**
- En réponse à un certain type de **signal cellulaire**
- Par **Clivage protéolytique** du zymogène, il s'agit d'un **processus post-traductionnel**.

Clivage Protéolytique : mécanismes par lequel les **niveaux d'une enzyme active** peuvent être rapidement **augmentés** après action d'une **endopeptidase**.



Pour différencier la forme **active** de l'**inactive**, on ajoute le préfixe « **pro** » ou « **ogène** » pour décrire la forme **inactive**.

Exemple de zymogènes : pro-insuline, enzymes protéolytiques du pancréas : **trypsinogène**, **chymotrypsinogène**.

💡 Les précurseurs protéiques **inactifs** sont retrouvés dans la **digestion des aliments** et les **processus de coagulation**. 💡

C. L'ACTIVITE ENZYMATIQUE PEUT ETRE CONTROLEE DE MANIERE REVERSIBLE PAR MODIFICATION COVALENTE

La modification covalente est une régulation

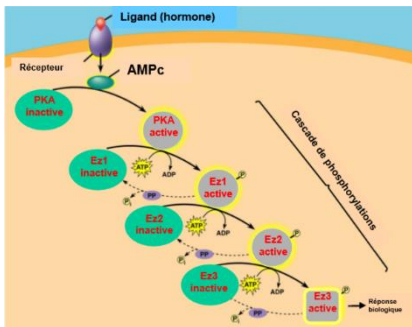
- d'**Activation** ou **inhibition** d'une enzyme **cible** impliquée dans une **voie métabolique**
- **Réversible**
- Par **modification post-traductionnelle**

Les **enzymes régulatrices** sont

- Enzyme de la **phosphorylation** = **protéine kinase**
- Enzyme de la **déphosphorylation** = **protéine phosphatase**

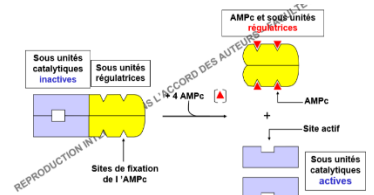
→ L'ajout de **phosphate** se fait sur le OH- d'une **Serine, Thréonine, Tyrosine** dans une séquence consensus.

💡 Une **Phosphorylation** ne veut **pas** obligatoirement dire une **activation** de l'enzyme. 💡



Lors d'un **signal cellulaire** :

- Quantité d'**AMPC** augmente
- **Fixation** d'AMPC au niveau des sous unités **régulatrices** de la PKA
- **Séparation** entre les sous unités **régulatrices** et **catalytiques**
- **Cascade de phosphorylation** = **Transduction du Signal**



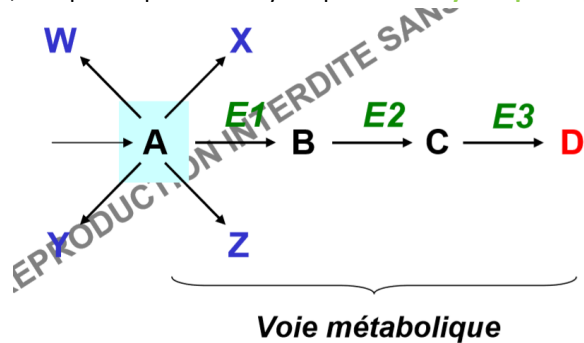
💡 **PLUSIEURS MODE DE CONTROLE PEUVENT ETRE ASSOCIE** 💡
(Agents Modulateur/Inhibiteurs, Protéolyse, Régulation Covalente)

LES ENZYMES ALLOSTERIQUES

Attention : On s'intéresse ici aux enzymes allostériques, ces enzymes sont différentes des enzymes de Michaelis et à la fois au niveau de la **structure** mais aussi au niveau du **mécanisme d'action**.

DEFINITION

Les **réactions enzymatiques** permettent la **transformation** de molécules biologiques, à partir de composés simples souvent *d'origine alimentaire*. Chacune des transformations va s'effectuer en **plusieurs étapes** ; on parle de **voies métaboliques**, chaque étape est catalysée par une **enzyme spécifique**.



- Soit le **composé A**, A est le substrat de **nombreuses réactions** conduisant vers des **transformations variées** en fonction des **besoins de la cellule**. On dit que le composé A est un **carrefour métabolique**.
- La transformation du **substrat A** en **produit D** n'est pas une transformation directe, il y a des **intermédiaires** qui se forment. L'objectif de la cellule est de produire le composé D **ni en excès ni en déficit** et **sans accumulation** de **produits intermédiaires B et C**.
→ La cellule est capable de **réguler** la quantité de produit D en agissant sur les **activités** des **enzymes intermédiaires**.

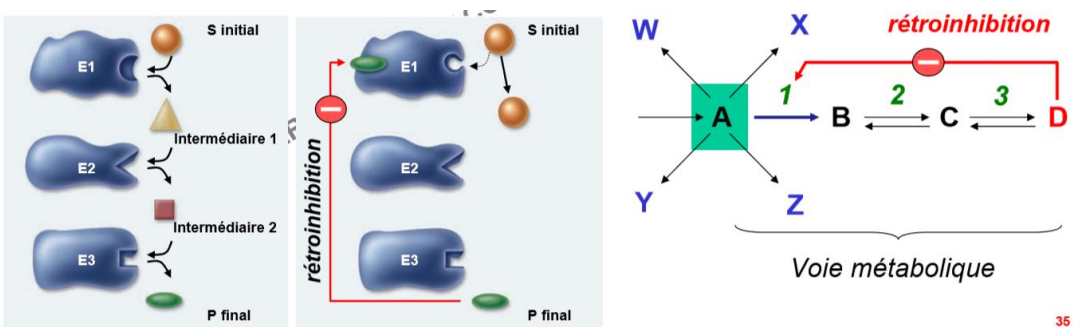
La vitesse de formation du dernier produit de la voie dépend de la vitesse de la réaction la plus lente. Les composés intermédiaires ne doivent pas s'accumuler. La première étape à la réaction la plus lente, c'est l'étape irréversible, limitante, siège de la régulation.

RETRO-INHIBITION

La régulation va se faire sur **l'enzyme limitante** de la chaîne de la réaction métabolique, qui est la **première enzyme (E1)**.

- Si le produit final D est en quantité *insuffisante* → l'enzyme sera **activée**
- Si le produit final D est en quantité *suffisante* → l'enzyme sera **inhibée**
- Le produit final est **indépendant** des autres enzymes et de la concentration des intermédiaires.

Ce système de régulation, s'appelle la **retro-inhibition**.
La rétro-inhibition augmente ou régresse la vitesse de la réaction.



35

STRUCTURE

Ces enzymes fonctionnent via l'action de

- Un **site actif** responsable de la **transformation** du substrat en produit
- Un **site régulateur** (*différent du site actif*) permettant l'interaction réversible avec l'**effecteur** ou **métabolite régulateur**

C'est **effecteur** ou **métabolite régulateur** ne participent **pas à la catalyse**. Ils vont se fixer au **site régulateur** de l'enzyme → vont entraîner des **changements de conformation** au niveau de la structure de l'enzyme → qui vont entraîner une **modification de l'activité enzymatique** :

- Soit une **diminution** de l'activité enzymatique → on parle **d'inhibiteurs allostériques**
- Soit une **augmentation** de l'activité enzymatique → on parle **d'activateurs allostériques**

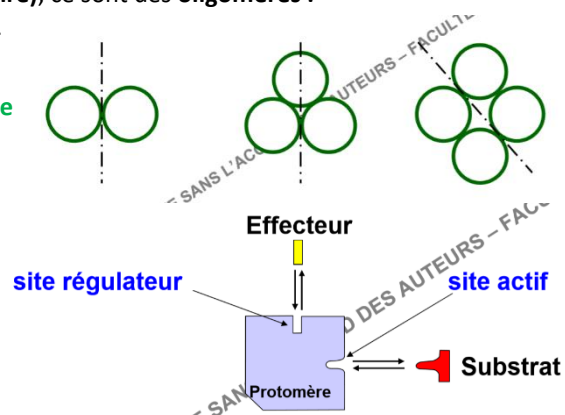
ALLOSTERIE

Allostérie : « allos » autre et « stereos » forme

L'allostérie correspond aux **variations de conformations** de certaines protéines engendrant une **modification de la vitesse de réaction**, en réponse à la fixation d'une molécule régulatrice **activatrice** ou **inhibitrice**.

L'Allostérie s'explique par la mise en place **d'effets coopératifs** → pour qu'il y ait une coopération il faut que l'enzyme soit sous **forme oligomérique (structure quaternaire)**, ce sont des **oligomères** :

- Protéines complexes qui possèdent **plusieurs sous-unités** nommée **protomère**
- Organisées de façon à présenter un **axe de symétrie**
- Les interactions entre les différents protomères au niveau de l'enzyme sont **identiques**.



Généralement, **chaque protomère** possède :

- Un **site actif** pour le substrat
- Un **site régulateur** de fixation pour le **modulateur = effecteur**

L'Allostérie n'est pas limitée aux enzymes, en effet elle concerne aussi : les transporteurs (l'hémoglobine), les canaux, les pompes, les récepteurs, les protéines contractiles...

✓ **Caractéristiques d'une protéine allostérique :**

- **-Oligomérique** : structure **quaternaire**
- **Variation de conformation** de la protéine dépend du taux d'occupation des sites de liaison
- Cinétique enzymatique **non michaelienne**
- Protéines exercent un rôle essentiel dans la **régulation** du métabolisme

✓ **Il existe 2 types d'enzymes allostériques :**

- **Système K** : la régulation se traduit par une variation de l'**affinité** du substrat pour l'enzyme
- **Système V** : la régulation se traduit par une variation de la **vitesse maximale**

LES EFFECTEURS ALLOSTERIQUES

Les **effecteurs allostériques** sont des **ligands** dont le site de fixation est **différent** du site actif. L'effecteur est un **régulateur allostérique**, il se fixe au **protomère** en entraine une **modification de la conformation** qui **favorisent** ou **inhibe l'activité de l'enzyme**.

La liaison du **modulateur** au **protomère** est **réversible, non covalente** et induit un changement de conformation.

L'effecteur peut-être :

- Une **molécule de substrat différente de celle qui participe à la réaction enzymatique** → on parle d'effet allostérique homotrope
- Une **molécule différente du substrat** → on parle d'effet allostérique hétérotrope.

⚠ Les protomères des enzymes allostériques peuvent présenter des conformations différentes :

- Un état conformationnel **Défavorable Tendu** E_t
- Un état conformationnel **Favorable Relâché** E_r



→ Ces 2 états sont en **équilibre**, c'est à dire que si la concentration de l'un diminue, l'autre diminue aussi. On passe de l'un à l'autre par une **transition allostérique**.

EFFET ALLOSTERIQUE HOMOTROPE

On considère cette réaction où **l'effecteur est de même nature que le substrat** mais une molécule différente :

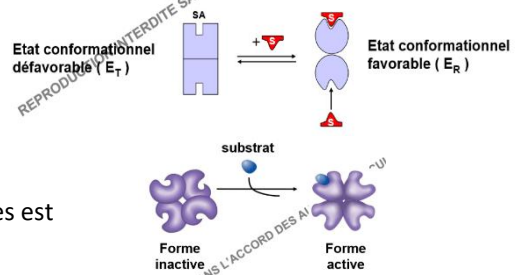
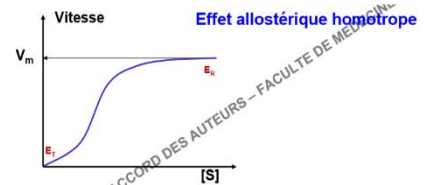


S'il y a une augmentation de **S**, il y aura une **augmentation** de la formation du complexe **ErS**, soit une **diminution** de **Er**.

→ Or une **diminution** de **Er** engendre une **diminution** de **Et** par **transition allostérique** les enzymes passent d'un **état Tendu** a un **état Relâché**.



→ Donc on se retrouve avec encore plus d'enzyme dans un **état conformationnelle favorable** → il y a une **coopérativité positive**
 → c'est donc une **régulation positive** du **Substrat** sur l'enzyme.

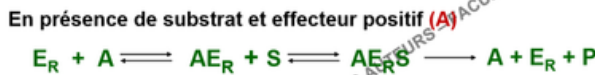


☺ On dit qu'il y a **coopérativité** quand l'activité des autres protomères est **augmentée** suite à la **fixation d'un substrat sur un protomère**.

EFFET ALLOSTERIQUE HETEROTROPE

1/ L'EFFECTEUR EST UN ACTIVATEUR

On considère cette réaction où **l'effecteur A est de nature différente du substrat et c'est un activateur** :



S'il y a une augmentation de **A**, il y aura une **augmentation** de la formation du complexe **Aer**, soit une **diminution** de **Er**.

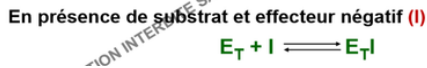
Or une **diminution** de **Er** engendre une **diminution** de **Et** par **transition allostérique** les enzymes passent d'un **état Tendu** a un **état Relâché**.



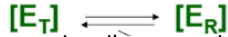
→ Donc on se retrouve avec encore plus d'enzyme dans un **état conformationnelle favorable** → il y a une **coopérativité positive** → c'est donc une **régulation positive** de **l'activateur** sur l'enzyme.

2/ L'EFFECTEUR EST UN INHIBITEUR

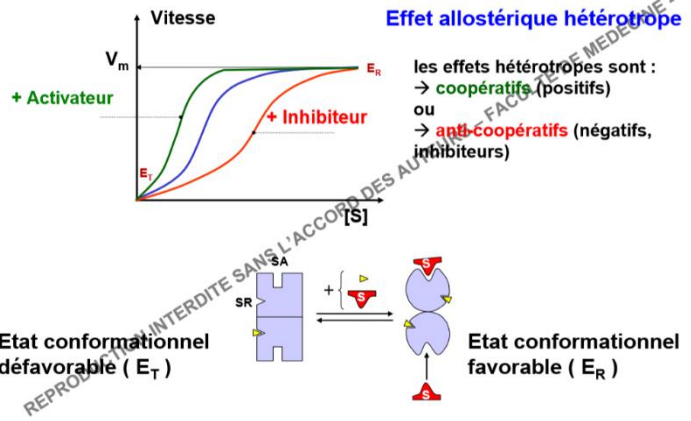
On considère cette réaction où l'effecteur I est de nature différente du substrat et c'est un inhibiteur :



S'il y a une augmentation de I, il y aura une **augmentation** de la formation du complexe **Et**, soit une **diminution** de **Et**. Or une **diminution** de **Et** engendre une **diminution** de **Er** par **transition allostérique** les enzymes passent d'un **état Relâché** a un **état Tendu**.



→ Donc on se retrouve avec encore plus d'enzyme dans un **état conformationnelle défavorable** → il y a une **coopérativité négative** → c'est donc une **régulation négative** de l'**Inhibiteur I** sur l'enzyme.



On remarque que l'**effet allostérique homotrope** est toujours **positif** hors l'**effet allostérique hétérotrope** peut être **positif** comme **négatif** dépendant de la **molécule régulatrice** !

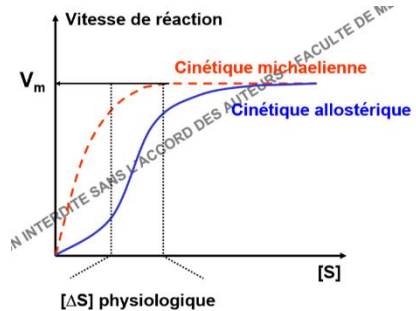
Les **affinités** des sites de fixation du protomère pour les ligands et la **Vmax** de la réaction dépendent de l'**état du protomère**

COMPARAISON DES CINETIQUES MICHAELIENNE & ALLOSTERIQUE

On remarque que :

- Les enzymes **allostériques** → Forme sigmoïde
- Les enzymes **michaeliennes** → Forme hyperbolique

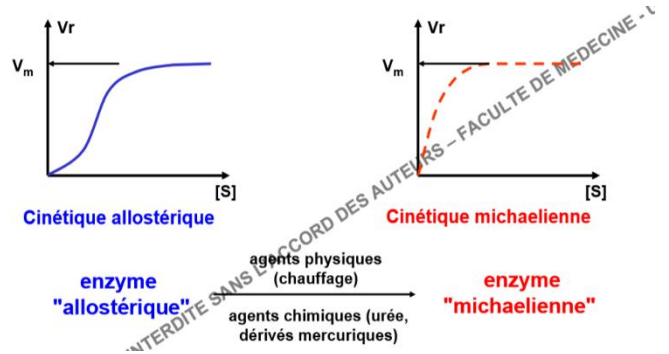
- ✓ Pour des **[S] basses** → les enzymes **michaeliennes** ont une vitesse plus importante
- ✓ Pour des **[S] plus importantes** → la courbe est plus pentu pour les enzymes **allostériques** : elles fonctionnent plus rapidement grâce à la **coopérativité positive**.



On peut passer d'une enzyme **allostérique** à une enzyme **michaelienne** en **détruisant sa structure oligomérique** :

- Soit par des **agents physiques** (chauffage)
- Soit par des **agents chimiques** (l'urée ou des dérivés mercuriques)

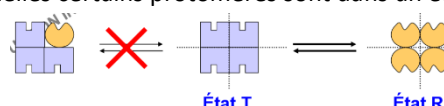
→ On parle de **désensibilisation** lorsqu'il y a perte de sensibilité des enzymes aux effecteurs allostériques. Seul le **site allostérique est détruit** avec **perte du phénomène de coopérativité**.



LES MODELES DE TRANSITION ALLOSTERIQUE

1ER MODELE : LE MODELE CONCERTÉ (MONOD, WYMAN, CHANGEUX)

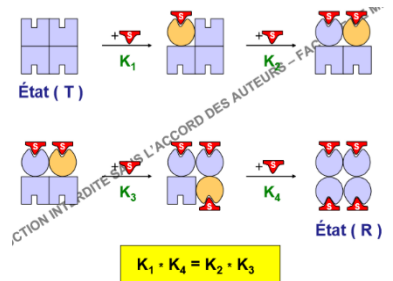
Selon ce modèle, au cours de la transition allostérique, il doit y avoir **conservation de l'axe de symétrie**. C'est l'**ensemble des protomères** qui subit la transition allostérique, il ne peut **pas** y avoir d'enzymes « hybrides » dans lesquelles certains protomères sont dans un état **relâché** et d'autres dans un état **tendu**.



2EME MODELE : LE MODELE SEQUENTIEL (HYPOTHESE DE KOSHLAND)

Dans ce modèle il **peut exister des « hybrides »** car la transition va se faire de manière **séquentielle**, à un moment il y aura des protomères se trouvant dans un état **tendu** et d'autres dans un état **relâché**.

→ A la fin ils se retrouveront tous dans le même état.



HIERARCHIE DES CONTROLES

L'adaptation des activités enzymatiques s'effectue à des niveaux et dans des temps différents

Niveau	Adaptation aux conditions	Temps nécessaire
[S] et [P]	intracellulaires	immédiat
Effecteurs allostériques	intracellulaires, intégration du métabolisme	immédiat ou très rapide
Contrôles covalents	extracellulaires (signaux hormonaux, nerveux, etc...)	rapide (selon le signal)
Contrôle de l'expression du gène	intra- et extracellulaires	lent

Tu es un champion, lâche rien et surtout bosses bien l'enzymo c'est facile il suffit de comprendre ! Courage <3
Dédi à ugo et matouf