

**ENZYMOLOGIE
MOLÉCULAIRE
ET CELLULAIRE**

TOME I

Jeannine YON-KAHN et Guy HERVÉ



17, avenue du Hoggar
Parc d'Activité de Courtabœuf, BP 112
91944 Les Ulis Cedex A, France

Grenoble Sciences

Grenoble Sciences poursuit un triple objectif :

- réaliser des ouvrages correspondant à un projet clairement défini, sans contrainte de mode ou de programme,
- garantir les qualités scientifique et pédagogique des ouvrages retenus,
- proposer des ouvrages à un prix accessible au public le plus large possible.

Chaque projet est sélectionné au niveau de Grenoble Sciences avec le concours de referees anonymes. Puis les auteurs travaillent pendant une année (en moyenne) avec les membres d'un comité de lecture interactif, dont les noms apparaissent au début de l'ouvrage. Celui-ci est ensuite publié chez l'éditeur le plus adapté.

(Contact : Tél. : (33)4 76 51 46 95 - E-mail : Grenoble.Sciences@ujf-grenoble.fr)

Deux collections existent chez EDP Sciences :

- la ***Collection Grenoble Sciences***, connue pour son originalité de projets et sa qualité
- ***Grenoble Sciences - Rencontres Scientifiques***, collection présentant des thèmes de recherche d'actualité, traités par des scientifiques de premier plan issus de disciplines différentes.

Directeur scientifique de Grenoble Sciences

Jean BORNAREL, Professeur à l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1

Comité de lecture pour "Enzymologie moléculaire et cellulaire"

- **Jean-Pierre MAZAT**, Professeur à l'Université Victor Ségalen, Bordeaux 2
- **Guy LAUQUIN**, Professeur à l'Université Victor Ségalen, Bordeaux 2
- **Jacques RICARD**, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie, Paris 7
- **Joël LUNARDI**, Professeur à l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1
- **Jean PELMONT**, Professeur à l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1
- **Michel VAN DER REST**, Professeur à l'École Normale Supérieure de Lyon
- **Bahram HOUCHMANDZADEH**, Directeur de recherche au CNRS, au laboratoire de Spectrométrie Physique de Grenoble

Cet ouvrage a bénéficié du soutien de l'Institut Servier (Neuilly-sur-Seine), de l'Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire (Paris-Sud), de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles du CNRS (Gif-sur-Yvette), et du Département des Sciences Chimiques du CNRS

Grenoble Sciences bénéficie du soutien du **Ministère de l'Éducation nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**, et de la **Région Rhône-Alpes**
Grenoble Sciences est rattaché à l'**Université Joseph Fourier de Grenoble**

Réalisation et mise en pages : Centre technique Grenoble Sciences

Illustration de couverture : Alice GIRAUD

ISBN 2-86883-816-2

© EDP Sciences, 2005

EXTRAITS

Parmi les erreurs relevées dans la littérature, il convient de signaler la fausse interprétation des diagrammes de SCATCHARD non-linéaires mentionnée par NØRBY *et al.* (1980). **La figure 2.15 illustre ce type d'erreur.** La figure 2.15a représente l'interprétation fautive qui consiste à assimiler la pente des parties linéaires du diagramme à la constante de dissociation et à extrapoler simplement pour avoir le nombre de sites de chaque catégorie. La figure 2.15b représente la décomposition rigoureuse de ce diagramme selon le procédé indiqué précédemment (voir § 2.3.3).

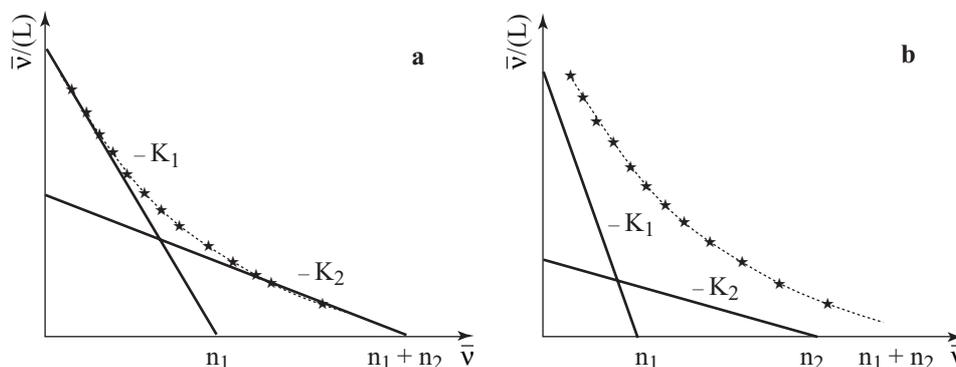


Figure 2.15 - Diagrammes de SCATCHARD théoriques pour la fixation d'un ligand sur deux catégories de sites différents

(a) résolution incorrecte des données - (b) résolution correcte des données
[Reproduit avec la permission de NØRBY *et al.*, 1980, *Analytical Biochemistry*, 102, 319. © Elsevier]

- Lorsque l'expérimentation est conduite d'une manière correcte et qu'il n'y a pas d'ambiguïté sur la construction graphique, il convient encore d'utiliser le meilleur procédé d'analyse des données. Ceci a fait l'objet de nombreuses discussions dans la littérature. Il a été souligné précédemment que, parmi les représentations linéaires, le diagramme de SCATCHARD permet une meilleure évaluation des paramètres que le diagramme de KLOTZ. Une démonstration en sera faite dans la partie II (chapitre 5, § 5.2.3), à propos des diagrammes d'EADIE et de LINEWEAVER-BURK, qui sont des représentations respectivement équivalentes des précédentes dans le cas des réactions enzymatiques.

KLOTZ (1982) critique l'utilisation du diagramme de SCATCHARD, en particulier l'extrapolation permettant d'obtenir le nombre de sites dans les systèmes biologiques où existent souvent plusieurs catégories de sites récepteurs avec des affinités différentes, ainsi d'ailleurs que des fixations non-spécifiques, les expériences ne permettant pas souvent d'atteindre des valeurs proches de la saturation. KLOTZ propose d'utiliser un autre type de représentation dans laquelle la concentration des molécules fixées est portée en fonction du logarithme de la concentration de ligand libre. Si tous les sites sont équivalents et indépendants, cette représentation a les caractéristiques suivantes : le point d'inflexion correspond à la demi-saturation, la courbe sigmoïde est symétrique par rapport au point d'inflexion, le plateau correspondant à n , le nombre de sites est atteint asymptotiquement pour les très grandes valeurs de la concentration de ligand libre. KLOTZ souligne que dans beaucoup de

fluctuation... **On voit que l'évolution au cours du temps de semblables systèmes ne peut être comprise qu'à l'aide de méthodes à la fois déterministes et stochastiques.** »

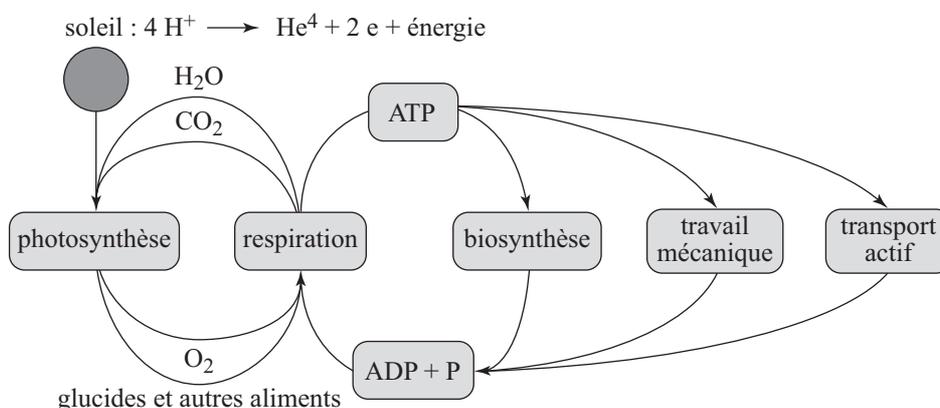
3.2. ECHANGE DE MATIÈRE ET D'ÉNERGIE AVEC L'ENVIRONNEMENT

Les êtres vivants, non seulement échangent de l'énergie, mais encore échangent de la matière avec l'environnement. Il y a en fait une circulation de matière et d'énergie entre les mondes minéral, végétal et animal. On peut représenter le cycle général par le schéma de la figure 3.3. La lumière solaire est la source de toute l'énergie biologique. Grâce à la photosynthèse par les plantes qui exige l'apport de quantas de lumière, CO_2 et H_2O sont transformés en glucides et oxygène, puis en autres molécules alimentaires. Les biotopes qui se sont développés autour des sources hydrothermales des failles volcaniques du fond des océans représentent une exception. La vie des organismes qui constituent ces biotopes repose entièrement sur l'aptitude de bactéries chimioautolithotrophes à extraire l'énergie de réactions chimiques telles que l'oxydation des sulfures pour la synthèse des molécules organiques.

La lumière visible est de l'énergie sous forme électromagnétique ou rayonnante. A la température considérable qui règne dans le soleil (6 000 K), une partie de l'énorme quantité d'énergie prisonnière dans le noyau des atomes d'hydrogène est libérée tandis qu'il se transforme par fusion nucléaire en atomes d'hélium et électrons :



Au cours de cette réaction, un quantum d'énergie est émis sous forme de rayonnement.

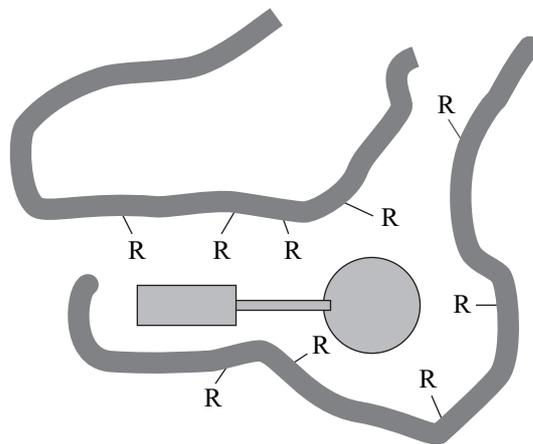


3.3 - Cycle général de matière et d'énergie entre les mondes minéral, végétal et animal

9 – TOPOLOGIE DU CENTRE ACTIF DES ENZYMES

Pour la plupart des enzymes, il existe une disproportion entre la taille de la molécule enzymatique et la taille du substrat. Une telle constatation a conduit très tôt à la notion de **centre actif**, du fait qu'une proportion très faible de la surface de l'enzyme entre en contact avec le substrat. Toutefois, le concept de centre actif est resté longtemps assez mal défini. Pour KOSHLAND, le centre actif est constitué par tous les atomes de l'enzyme qui sont en contact délimité par le rayon de VAN DER WAALS avec les atomes du substrat, c'est-à-dire ceux qui restent à une distance minimale telle que les couches électroniques ne soient pas perturbées. KOSHLAND distingue ainsi les résidus de contact et les résidus auxiliaires, ces derniers pouvant jouer un rôle dans l'activité enzymatique (figure 9.1).

9.1 - Représentation schématique du centre actif d'un enzyme avec les différents résidus R qui interagissent avec le substrat



Une telle conception reste cependant insuffisante. Elle est purement spatiale et ne tient pas compte de l'aspect fonctionnel. En effet, les résidus de l'enzyme qui entrent en contact avec le substrat peuvent avoir des rôles très divers, soit qu'ils interviennent dans la fixation du substrat, soit qu'ils participent directement à la catalyse. Certains enfin ne jouent aucun rôle, présents au centre actif par suite de l'enchaînement séquentiel ils n'ont d'influence directe ni sur l'association enzyme-substrat, ni sur la catalyse. Leur modification ou leur remplacement par d'autres acides aminés lorsque l'on passe d'une espèce à une autre par exemple ou lorsqu'on les remplace par mutagenèse dirigée, ne change pas l'activité. Par contre, certains acides aminés qui ne sont pas en contact de VAN DER WAALS avec le