

# TABLE DES MATIÈRES

## TOME I

PRÉFACE.....	1
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	5
<b>PARTIE I – THERMODYNAMIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES</b>	
<b>1 – RAPPEL DES PRINCIPES THERMODYNAMIQUES - NOTION D'ÉQUILIBRE CHIMIQUE.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1. Rappel des principes thermodynamiques.....</b>	<b>21</b>
1.1.1. Premier principe.....	21
1.1.2. Deuxième principe.....	22
1.1.3. Troisième principe.....	24
1.1.4. Energie libre.....	25
<b>1.2. Notion d'équilibre - Energie libre standard.....</b>	<b>26</b>
<b>1.3. Détermination expérimentale des paramètres thermodynamiques.....</b>	<b>28</b>
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
<b>1.4. Réactions couplées.....</b>	<b>33</b>
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
<b>Bibliographie.....</b>	<b>41</b>
<b>2 – EQUILIBRES D'ASSOCIATION PROTÉINE-LIGANDS.....</b>	<b>43</b>
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
<b>3 – LES ÊTRES VIVANTS, SYSTÈMES OUVERTS.....</b>	<b>71</b>
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
 <b>PARTIE II – ETUDES CINÉTIQUES DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES EN SOLUTION</b>	
<b>4 – CINÉTIQUE CHIMIQUE.....</b>	<b>95</b>
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
<b>4.2.</b>	<b>Activation des molécules</b> .....	<b>108</b>
4.2.1.	Energie d'activation .....	108
4.2.2.	Réactions catalysées - Rôle du catalyseur .....	111
<b>5</b>	<b>– CINÉTIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES À COMPORTEMENT MICHAELIEN</b> .....	<b>113</b>
<b>5.1.</b>	<b>Evolution des réactions enzymatiques : aspect phénoménologique</b> .....	<b>114</b>
5.1.1.	Variation de la quantité de produit formé en fonction de temps .....	114
5.1.1.1.	Phase préstationnaire .....	114
5.1.1.2.	Phase stationnaire .....	114
5.1.1.3.	Phase d'inhibition par les produits de la réaction .....	114
5.1.1.4.	Phase d'équilibre .....	115
5.1.2.	Théorie de MICHAELIS-MENTEN .....	115
<b>5.2.</b>	<b>Réactions enzymatiques à un substrat et un complexe intermédiaire</b> .....	<b>117</b>
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.	Cinétique de l'état préstationnaire .....	119
5.2.2.2.	Atteinte de l'état stationnaire .....	121
5.2.2.3.	Approximation du quasi-équilibre .....	122
5.2.2.4.	Ordre des réactions enzymatiques .....	122
5.2.3.	Méthodes de détermination des paramètres cinétiques .....	126
5.2.3.1.	Représentation semi-logarithmique .....	127
5.2.3.2.	Représentation d'EADIE .....	127
5.2.3.3.	Représentation de LINEWEAVER-BURK .....	128
5.2.3.4.	Représentation de HANES-DIXON .....	128
5.2.3.5.	Représentation à partir de l'équation des vitesses intégrée .....	128
5.2.3.6.	Représentation directe d'EISENTHAL et CORNISH-BOWDEN .....	129
5.2.3.7.	Validité des différentes représentations graphiques .....	129
<b>5.3.</b>	<b>Cinétique des réactions enzymatiques en présence d'effecteurs (inhibiteurs ou activateurs)</b> .....	<b>133</b>
5.3.1.	Cinétique des réactions enzymatiques en présence d'inhibiteurs .....	133
5.3.1.1.	Les inhibitions totales .....	133
5.3.1.2.	Inhibitions partielles .....	144
5.3.2.	Cinétique des réactions enzymatiques en présence d'activateur .....	148
5.3.2.1.	Activations totales .....	149
5.3.2.2.	Activations partielles .....	151
5.3.2.3.	Exemples d'activation enzymatique .....	152
5.3.2.4.	Activation par le substrat .....	154
<b>5.4.</b>	<b>Réactions enzymatiques à un substrat et plusieurs complexes intermédiaires</b> .....	<b>155</b>
5.4.1.	Cinétiques à l'état stationnaire .....	155
5.4.1.1.	Traitement cinétique par les déterminants .....	156
5.4.1.2.	Traitement par la méthode graphique de KING et ALTMAN .....	157
5.4.1.3.	Traitement par d'autres méthodes de graphes .....	157
5.4.1.4.	Relation entre les paramètres de l'équation des vitesses dans les réactions à un substrat et deux complexes intermédiaires .....	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</i> : $k_2 \ll k_3$ .....	163
5.4.3.2.	<i>Désacylation limitante</i> : $k_2 \gg k_3$ .....	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
<b>5.5.</b>	<b>Réactions enzymatiques à deux substrats</b> .....	<b>179</b>
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
<b>5.6.</b>	<b>Analyse statistique des données expérimentales</b> .....	<b>198</b>
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 <math>w_i</math></i> .....	204
5.6.5.3.	<i>Stratégie générale</i> .....	204
	<b>Bibliographie</b> .....	<b>204</b>
<b>6</b>	<b>MÉTHODES EXPÉRIMENTALES D'ÉTUDE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES</b> .....	<b>207</b>
6.1.	<i>Méthodes discontinues</i> .....	208
6.2.	<i>Méthodes continues</i> .....	208
6.3.	<i>Dosages enzymatiques couplés</i> .....	210

<b>6.4. Méthodes de flux</b> .....	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
<b>6.5. Méthodes de relaxation</b> .....	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 n 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
<b>6.6. Etude des réactions enzymatiques aux basses températures : cryoenzymologie</b> .....	235
<b>6.7. Etude des réactions enzymatiques sous haute pression</b> .....	236
6.7.1. Principe .....	236
6.7.2. Volume d'activation.....	238
6.7.3. Appareillage .....	239
<b>Bibliographie</b> .....	241

### PARTIE III – FORMATION ET STRUCTURE DU CENTRE ACTIF DES ENZYMES

<b>7 – ORIGINE DES ENZYMES ET ÉVOLUTION</b> .....	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
<b>8 – FORMATION DE LA STRUCTURE FONCTIONNELLE DES ENZYMES :</b>	
<b>ÉVÉNEMENTS CO- ET POST-TRADUCTIONNELS</b> .....	269
<b>8.1. Processus covalents</b> .....	270
8.1.1. Protéolyses limitées.....	270
8.1.2. Modifications chimiques.....	275
<b>8.2. Processus non-covalents</b> .....	280
8.2.1. Repliement des protéines.....	280
8.2.2. Assemblage des sous-unités.....	282
Bibliographie.....	283
<b>9 – TOPOLOGIE DU CENTRE ACTIF DES ENZYMES</b> .....	285
<b>9.1. Approche cinétique - Analyse des profils de pH</b> .....	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
<b>9.2. Approche chimique de l'étude du centre actif des enzymes</b> .....	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
<b>9.3. Utilisation des méthodes de mutagenèse dirigée pour l'étude du centre actif des enzymes</b> .....	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
<b>10 – FORMATION DES COMPLEXES ENZYME-SUBSTRAT</b> .....	371
<b>10.1. Nature des forces intervenant dans les associations enzyme-substrat</b> .....	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
<b>10.2. Energétique des associations enzyme-substrat</b> .....	390
<b>10.3. Mécanismes d'association enzyme-substrat</b> .....	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
<b>11 – MÉCANISMES CATALYTIQUES</b> .....	401
<b>11.1. La catalyse chimique</b> .....	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
<b>11.2. Les effets isotopiques.....</b>	<b>417</b>
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 <sub>2</sub> O et D <sub>2</sub> 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
<b>11.3. Principaux types de réactions catalysées par les enzymes.....</b>	<b>427</b>
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
<b>11.4. Particularités de la catalyse enzymatique.....</b>	<b>438</b>
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
<b>12 – EXEMPLES DE RELATIONS STRUCTURE-FONCTION</b>	
<b>DANS QUELQUES SYSTÈMES ENZYMATIQUES</b> .....	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 <sup>++</sup> .....	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
<b>12.5. La triose phosphate isomérase</b> .....	<b>544</b>
12.5.1. Structure de l'enzyme .....	544
12.5.2. Structure du complexe enzyme-substrat .....	545
12.5.3. Mécanisme réactionnel .....	545
<b>12.6. L'aspartate aminotransférase</b> .....	<b>550</b>
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
<b>12.7. Les aldolases</b> .....	<b>559</b>
12.7.1. Propriétés structurales .....	560
12.7.2. Le site actif .....	562
12.7.3. Mécanisme catalytique .....	565
<b>12.8. Conclusions et perspectives</b> .....	<b>567</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>570</b>

## PARTIE V – RÉGULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>579</b>
<b>13 – RÉGULATION PAR INTERACTIONS NON-COVALENTES</b> .....	<b>581</b>
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

<b>13.7. Couplage thermodynamique entre énergie de fixation des ligands (substrats) et énergie d'interaction entre sous-unités</b> .....	603
<b>13.8. Coopérativité cinétique : modèle de RICARD</b> .....	605
<b>13.9. Coopérativité et allostérie</b> .....	607
<b>13.10. Exemples d'enzymes allostériques</b> .....	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 phosphofruktokinase.....	615
13.10.2.1. Structure de la phosphofruktokinase.....	616
13.10.2.2. Régulation allostérique de la phosphofruktokinase.....	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 hétéotropes 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
<b>13.11. Le phénomène de « squatting »</b> .....	638
<b>13.12. Les enzymes « mnémoniques »</b> .....	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
<b>13.13. Régulation par interaction protéine-protéine</b> .....	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
<b>Bibliographie</b> .....	664
<b>14 – RÉGULATIONS COVALENTES</b> .....	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 $\alpha_2$ -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
<b>14.4. Mécanismes d'action des systèmes cascades .....</b>	<b>692</b>
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
<b>14.5. Les inactivations irréversibles .....</b>	<b>710</b>
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
<b>Bibliographie.....</b>	<b>717</b>
<b>15 – ENZYMES MULTIFONCTIONNELS, COMPLEXES MULTIENZYMATIQUES</b>	
<b>ET CANALISATION MÉTABOLIQUE .....</b>	<b>719</b>
<b>15.1. La phosphoribosylanthranilate isomérase-indoleglycérolphosphate synthase.....</b>	<b>720</b>
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
<b>15.2. La tryptophane synthase.....</b>	<b>727</b>
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
<b>15.3. La protéine CAD.....</b>	<b>736</b>
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
<b>15.4. La carbamylphosphate synthétase.....</b>	<b>739</b>
15.4.1. Propriétés fonctionnelles.....	739
15.4.2. Propriétés structurales .....	740
15.4.3. Le tunnel .....	741
<b>15.5. Le complexe de la pyruvate déshydrogénase.....</b>	<b>742</b>
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
<b>15.6. La synthétase des acides gras .....</b>	<b>748</b>
15.6.1. Propriétés fonctionnelles.....	749
15.6.2. Caractéristiques structurales .....	750
<b>15.7. Complexes multienzymatiques transitoires et phénomène de canalisation.....</b>	<b>755</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>763</b>

## PARTIE VI – ENZYMOLOGIE EN MILIEU STRUCTURÉ

INTRODUCTION.....	767
<b>16 – LOCALISATION ET COMPARTIMENTATION CELLULAIRES.....</b>	<b>769</b>
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
<b>17 – CINÉTIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES CATALYSÉES</b>	
<b>PAR DES ENZYMES IMMOBILISÉS.....</b>	<b>783</b>
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
<b>18 – THÉORIE DU CONTRÔLE DES VOIES MÉTABOLIQUES.....</b>	<b>791</b>
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