

Université de Bejaia
Faculté des sciences de la nature
et de la vie
Département de biologie physico-
chimique

COURS D' ENZYMOLOGIE

Pour étudiants inscrits en L3 BIOCHIMIE et L3 TOXICOLOGIE

Enzymes à comportement cinétique non-michaeliens : Allostérie
CINÉTIQUE ALLOSTÉRIQUE



Pr KHETTAL BACHRA
Laboratoire *LBVEB*
Faculté des sciences de la nature
et de la vie
Université de Bejaia

1. Définitions & Généralités

ALLOSTERIE ET TRANSITION

ALLOSTERIQUE

Le terme d'**allostérie** (du grec ἄλλος, *allos* : autre et στερεός, *stereós* : solide/forme) désigne strictement **un changement de conformation** intervenu dans une protéine (une enzyme) à la suite de la fixation d'un composé dans ou en dehors du site de reconnaissance de la protéine.

La fixation de la molécule effectrice induit par effets coopératifs un changement de conformation spatiale de la protéine : **transition**

ALLOSTÉRIQUE

HETEROTROPE

Effet homotrope, quand la molécule effectrice allostérique (régulatrice) peut être le ligand d'action lui-même. Dans ce cas, le site d'action est lui-même site régulateur et se lie sur différents sites de reconnaissance.

Effet hétérotrope quand la molécule effectrice allostérique et le ligand spécifique d'action sont des molécules de nature différentes

ALLOSTÉRIE POSITIVE ET

ALLOSTÉRIE NÉGATIVE

Allostérie positive: la fixation d'un effecteur sur le site allostérique conduit à une conformation à affinité plus élevée pour la liaison du ligand sur le site de reconnaissance ==> *Coopérative positive*

Allostérie négative: la fixation d'un effecteur sur le site allostérique conduit à une conformation à affinité plus faible pour la liaison du ligand

COEFFICIENT DE HILL

sur le site de reconnaissance ==> *coopérative négative ou anti coopérativité* »

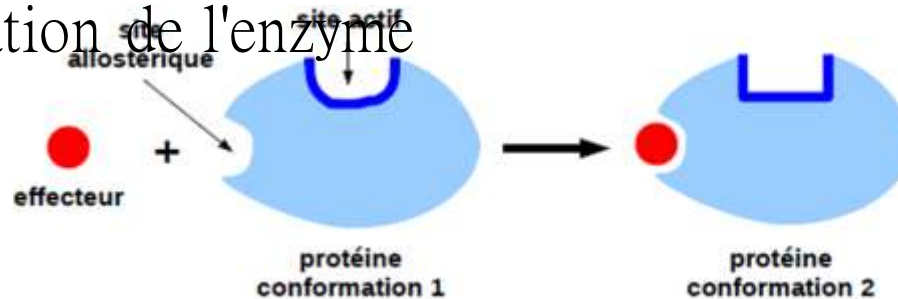
Coefficient de hill n_h ou coefficient de coopérativité renseigne sur le degré de coopérativité

$n_h = 1$	Coopérativité nulle	Courbe de saturation ou de cinétique a allure d'une hyperbole (Cinétique michaelienne)
$n_h > 1$	Une coopérativité >0 Affinité pour le ligand augmente	Courbe de saturation ou de cinétique a allure d'une sigmoïde (Cinétique allostérique effet homotrope)
$n_h < 1$	Coopérativité est <0 Affinité pour le ligand diminue	Courbe de saturation ou de cinétique a allure d'une hyperbole plate

- L'allostérie est un mode de régulation de l'activité d'une enzyme généralement à structure oligomérique, par lequel la fixation d'une molécule effectrice en un site (**site régulateur**) modifie les conditions de fixation du substrat sur le **site catalytique**.
- Une enzyme est qualifiée d'allostérique lorsque:

- ✓ il existe des effecteurs allostériques **hétérotropes**
- ✓ Et / ou des effets **homotropes par le substrat**

- i. La liaison de l'effecteur allostérique induit un changement réversible de la conformation de l'enzyme



- ii. La cinétique ne sera pas représentée en général par une allure hyperbolique (michaelienne) mais **par une allure sigmoïde**.
- iii. Modification des propriétés cinétiques de l'enzyme (d'affinité pour les substrats et ou constante catalytique).
- iv. Effet allostérique peut être inhibiteur ou activateur

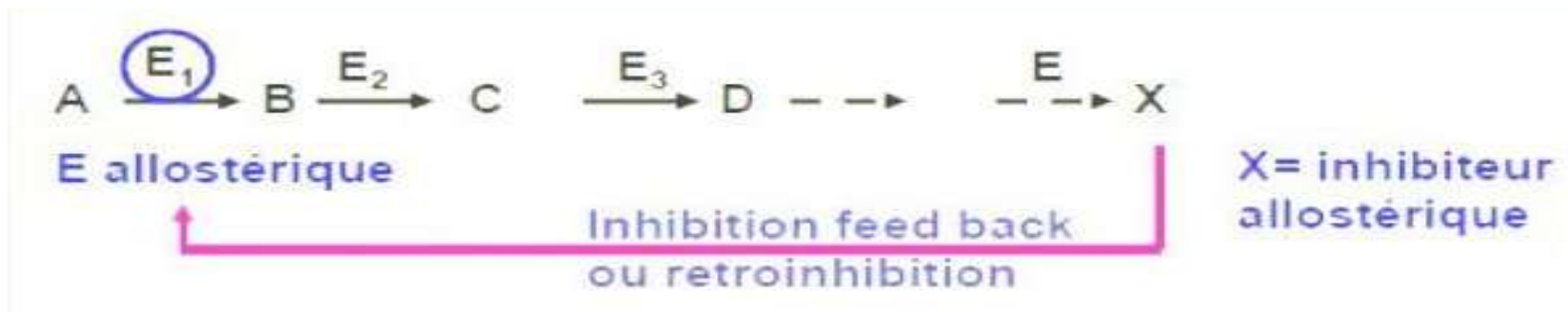
11. Propriété et Cinétique des enzymes allostériques

1. Caractéristiques des enzymes allostériques
2. Cinétique allostérique
3. Effecteurs allostériques
4. Désensibilisation

11.1. Caractéristiques des enzymes allostériques

Les enzymes allostériques :

- ❖ Ils Possèdent une structure quaternaire
- ❖ Ils Ont un comportement cinétique non conforme à la fonction de Michaelis
- ❖ Ils subissent des changements de conformation dans leur ensemble en fonction du taux d'occupation de leurs sites
- ❖ Ils ont en général une fonction régulatrice dans le métabolisme. Ils catalysent les réactions d'engagement des différentes voies métaboliques; sont faiblement actives quand il y a peu de substrat.



- ❖ Leurs paramètres cinétiques V_{max} et K_m peuvent être affectés par la nature et la concentration de l'effecteur allostérique.

11.2. Cinétique des enzymes allostériques

Equation de Hill (1910)

La réaction pour une **E** à **n** sous-unités pouvant chacune lier une molécule **S** (ligand), s'écrit:



L'équation de vitesse s'écrit:

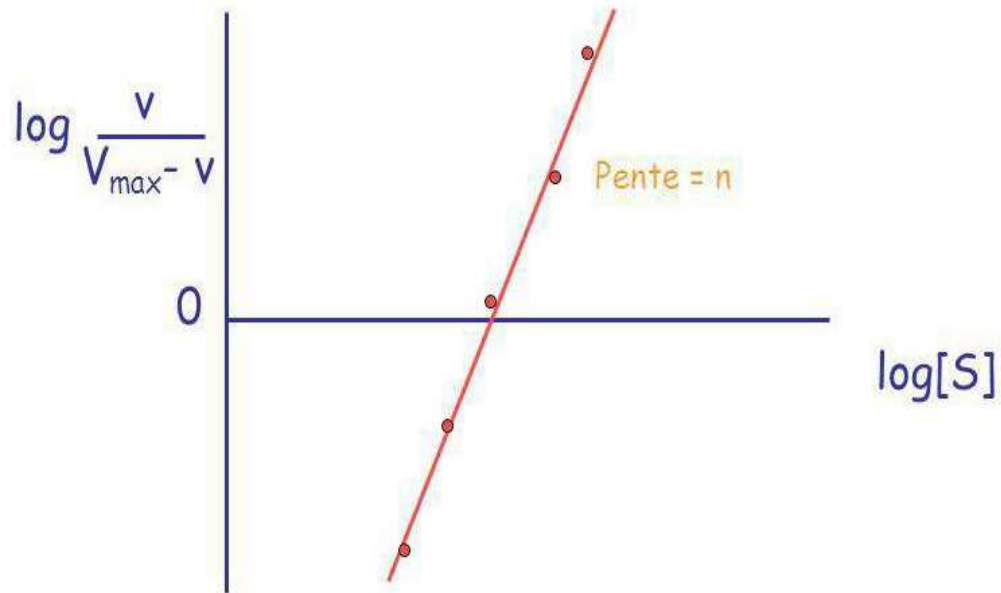
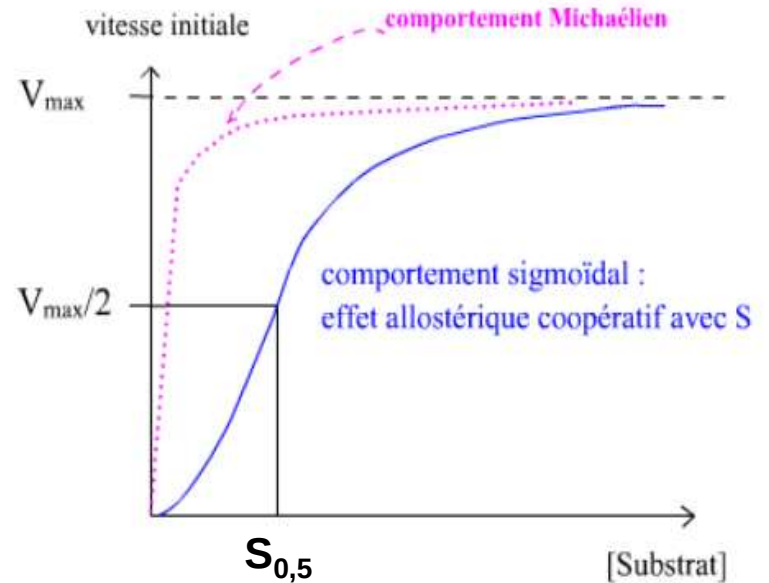
$$v = V_{\max} \frac{[S]^n}{S_{0,5}^n + [S]^n}$$

$$\text{Ou } K_m = S_{0,5}^n$$

Linéarisation de l'équation de Hill



$$\log \frac{v}{V_{\max} - v} = n \cdot \log [S] - n \cdot \log S_{0,5}$$



11.2. Cinétique des enzymes allostériques

1. La fixation du substrat sur ses sites exerce un effet coopératif positif.
2. La liaison du substrat sur un site induit la transconformation plus ou moins globale déplaçant les autres sous-unités vers à meilleur affinité ;
3. L'enzyme lie le substrat avec une meilleur affinité ce qui explique l'allure sigmoïde fonctions $v_i = f([S])$.

11.3. Effecteurs allostériques

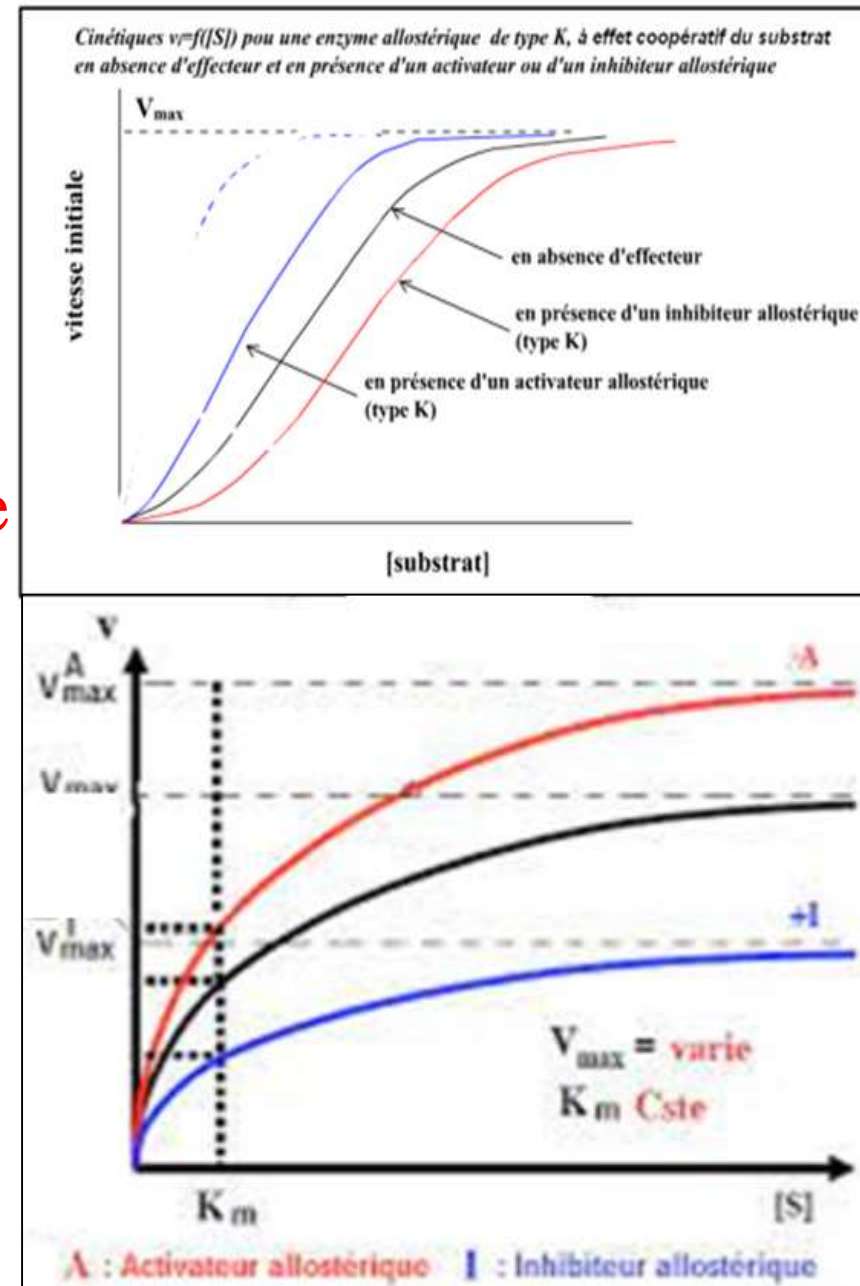
A. Les effecteurs allostériques

Les changements conformationnels dus à la liaison des effecteurs allostériques modifient l'affinité des différentes sous-unités pour le substrat catalysé et pas le coefficient catalytique (k_{cat} , V_{max}).

B. Les effecteurs allostériques hétérotropes de type K

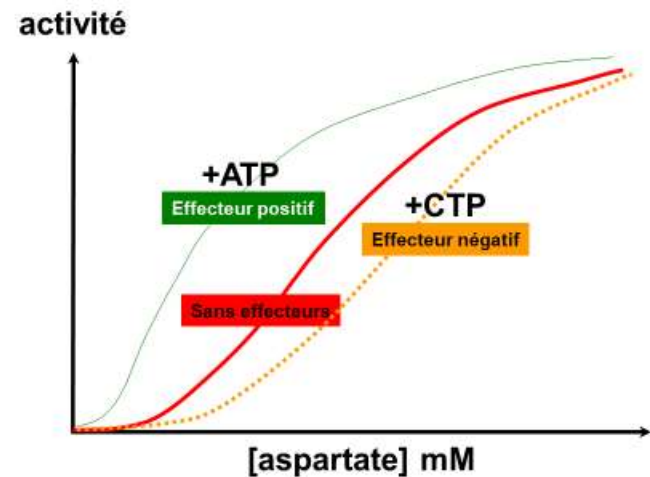
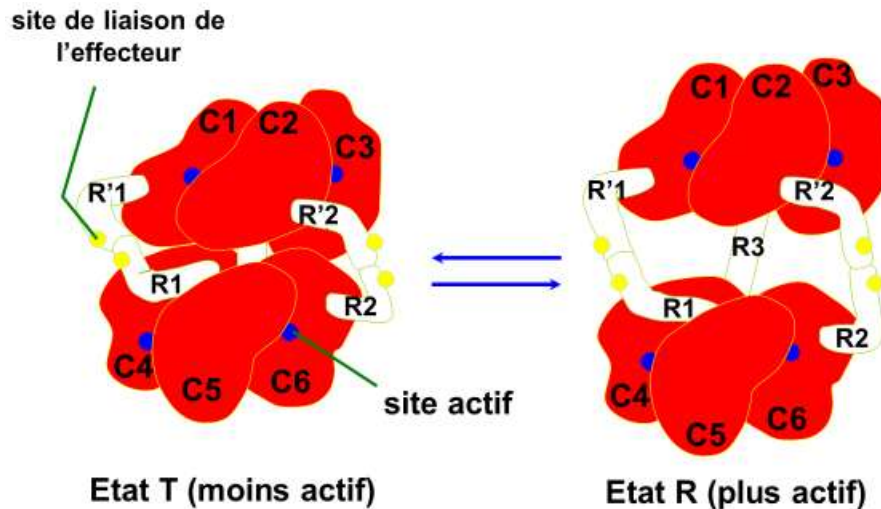
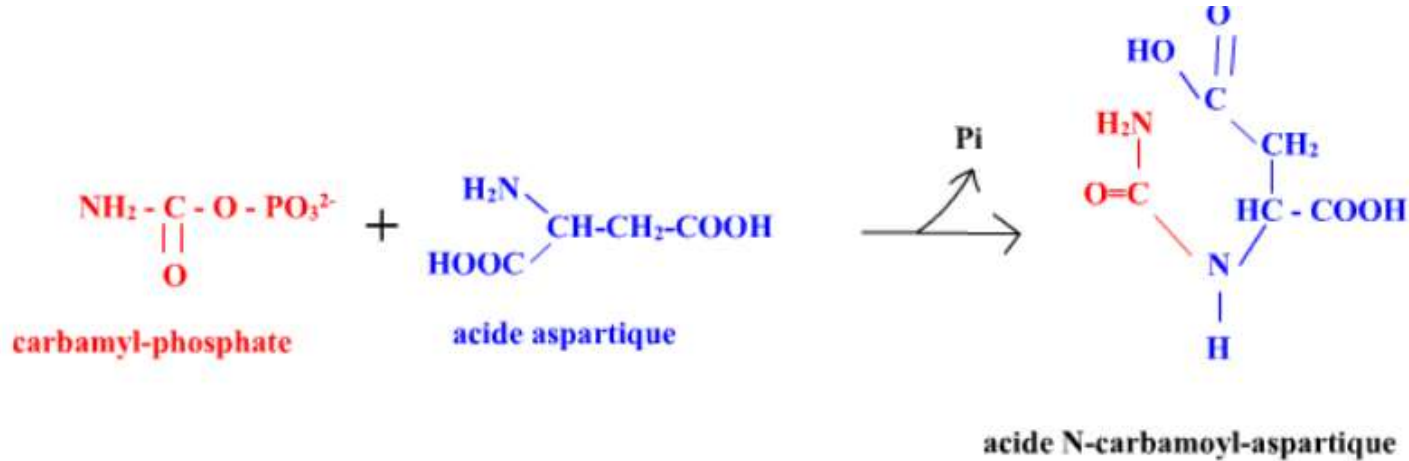
Les changements conformationnels dus à la liaison des effecteurs allostériques ne modifient pas l'affinité des différentes sous-unités pour le substrat catalysé mais conduit à une augmentation (activation) ou une diminution (inhibition) du coefficient catalytique (k_{cat} , V_{max}).

La cinétique ressemble à celle d'une cinétique michaelienne, mais l'effecteur modifie le V_{max} et le K_M .



Exemple d'enzymes allostériques

Exemple d'enzyme allostérique: Aspartate transcarbamylase de *E. coli*



IV.4. Désensibilisation

Le traitement d'une enzyme allostérique par des agents physiques (chauffage) ou chimiques (urée, dérivés mercuriques) s'accompagne d'une perte de la sensibilité de l'enzyme aux effecteurs allostériques sans perte de l'activité de l'enzyme.

La perte de l'effet allostérique est due à la dissociation des SU ou destruction des sites allostériques. Il en résulte **perte du phénomène de coopérativité et la cinétique devient hyperbolique**.

La liaison d'un activateur allostérique déplace l'enzyme vers l'état relâché à forte affinité pour le substrat. A concentration saturante en activateur, toutes les sous-unités de l'enzyme sont déplacées sous la forme relâchée : le comportement de l'enzyme devient Michaelien (tout effet coopératif du substrat est aboli puisque l'enzyme n'existe plus que sous la même forme, relâchée).

