

3

Bioénergétique

1- Définition

La **bioénergétique** c'est l'étude des mécanismes de transformations (conversion) de l'énergie dans les tissus vivants.

- ✘ L'étude des transformations d'énergie qui se produisent dans une portion de matière = **Thermodynamique**.
- ✘ Les scientifiques emploient le terme **système** pour désigner la portion de matière étudiée, et **environnement** pour faire référence à ce qui est extérieur à celle-ci.

L'énergie se conserve
(constante)



L'entropie (degré de désordre) augmente



Principes de la thermodynamique

4



(a) Premier principe de la thermodynamique.
L'énergie ne peut être ni créée ni détruite, seulement transférée ou transformée. Par exemple, l'énergie chimique (potentielle) des aliments sera convertie en énergie cinétique durant la course de l'ours brun, en (b).

(b) Deuxième principe de la thermodynamique. Chaque transfert ou transformation d'énergie accroît le désordre (l'entropie) de l'Univers. Ainsi, quand cet ours court, la libération de chaleur et de petites molécules (sous-produits métaboliques) augmente le désordre autour de lui. (Un ours brun peut atteindre une vitesse de plus de 56 km/h, soit celle d'un cheval de course.)

5

2- L'enthalpie (H)

Au cours d'un processus biochimique au sein d'une cellule, le système ouvert que constitue cette cellule va passer d'un état initial (l'état avant ce processus) à un état final (l'état après que ce processus a eu lieu). Durant ce processus, le système peut **recevoir de l'énergie** de l'extérieur ou bien au contraire lui en **céder**.



(a) Premier principe de la thermodynamique.
L'énergie ne peut être ni créée ni détruite, seulement transférée ou transformée. Par exemple, l'énergie chimique (potentielle) des aliments sera convertie en énergie cinétique durant la course de l'ours brun, en (b).

6

- En conséquence, la variation d'énergie interne se résume à la chaleur de la réaction à pression constante.
- Cette quantité de chaleur échangée par le système au cours d'une transformation réalisée à pression constante est appelée **enthalpie** ou H.

On dit qu'un processus est :

- ➡ **EXO**thermique quand il produit de la chaleur : $\Delta H < 0$
- ➡ **ENDO**thermique quand il absorbe de la chaleur : $\Delta H > 0$

7

3- L'entropie (S)

- Selon le second principe de la thermodynamique, tout échange ou transformation d'énergie dans un système ouvert augmente son **entropie** c-à-d le degré de désordre de ce système.
- Cette augmentation de l'entropie vient du fait qu'au cours de la plupart des transformations énergétiques, une partie de l'énergie est convertie en chaleur qui est perdue en se dispersant dans le milieu extérieur, ce qui augmente son degré de désordre.

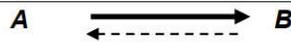
8

4- Énergie libre de Gibbs (G)

L'**énergie libre G**: quantité d'énergie contenue dans une molécule susceptible d'être libérée au cours d'une réaction chimique.

► G représente la partie d'énergie susceptible de fournir du travail.

a- Variation de l'énergie libre (ΔG)



$\Delta G > 0 \rightarrow GB > GA$ La réaction ne peut pas évoluer vers la droite

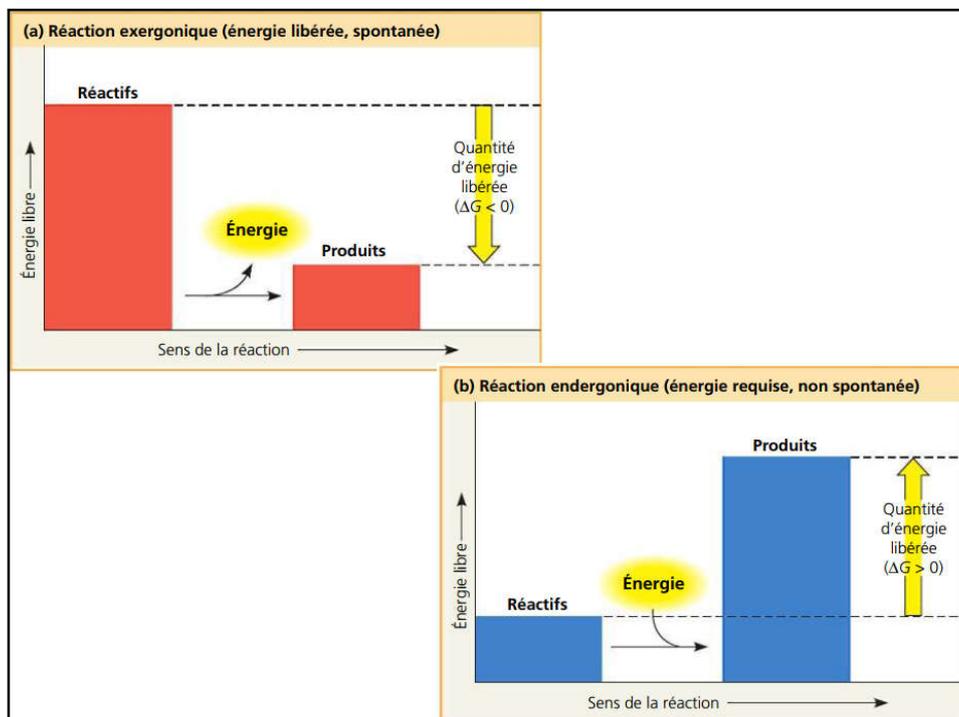
La réaction à besoin d'énergie \implies La réaction est endergonique

$\Delta G < 0 \rightarrow GB < GA$ La réaction se fait spontanément de gauche à droite

La réaction libère de l'énergie \implies la réaction est exergonique.

$\Delta G = 0 \rightarrow$ la réaction est en équilibre énergétique.

9



10

ΔG dépend :

- de la nature de la réaction
- du pH
- de la température
- des concentrations initiales de A et B

b- Variation de l'énergie libre dans la cellule

b-1 Caractéristiques de $\Delta G0'$ et $\Delta G0$

$\Delta G0'$ = variation d'énergie libre standard en **biochimie**

- à pH = 7
- à $t^\circ = 25^\circ\text{C}$,
- Pour une concentration de A et de B = 1M

$\Delta G0$ = variation d'énergie libre standard mesurée en **chimie** :

- à pH = 0
- à $t^\circ = 25^\circ\text{C}$,
- Pour une concentration de A et de B = 1M

$\Delta G0'$:

- * est indépendante des étapes de la réaction
- * Est une constante caractéristique pour chaque réaction
- * A une valeur invariable

11

b-2 ΔG réel

Soit la réaction : $A \rightleftharpoons B$

$$\Delta G \text{ réel} = \Delta G0' + RT \ln [B] / [A]$$

ΔG Réel = Variation d'énergie libre de Gibbs d'une réaction J / mol

$\Delta G0'$ = Variation d'énergie libre standard biologique de Gibbs J / mol

T : Température absolue ° kelvin ($0^\circ\text{C} + 273$)°Kelvin

R : Constante des gaz parfait (8.315 J/mol/degé)

B/A : Rapport des concentrations produits /réactifs

12

b-3 Relation $\Delta G^0'$ et constante d'équilibre

Soit la réaction : $aA \longrightarrow bB$

$$\Delta G = \Delta G^0' + RT \ln [B]^b / [A]^a$$

A l'équilibre

$$\Delta G=0 = \Delta G^0' + RT \ln [B]^b / [A]^a$$

$$\Delta G^0' = - RT \ln [B]^b / [A]^a$$

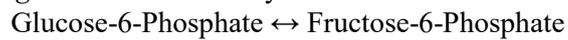
$$\Delta G^0' = - 2,3 RT \log k'_{eq}$$

$$K'_{eq} = [B]^b / [A]^a$$

13

Exemple

La *phosphoglucoisomérase* catalyse la réaction :



Avec $K_{eq} = 2$

On en déduit que :

$$\Delta G^0' = - 8,314 * 298 * \ln 2 = -1.7 \text{ kJ/mol.}$$

Remarque:

Réaction d'ordre 2:



$$\Delta G^0' = - 2,3 RT \log k'_{eq}$$

$K'_{eq} = \text{produits} / \text{réactifs}$

$$\Delta G = \Delta G^0' + 2.3 RT \log ([C^c][D^d] / [A^a][B^b])$$

14

c- notion de couplage

Si $\Delta G > 0$, la réaction ne peut avoir lieu (endergonique) sauf si la réaction $A \rightarrow B$ est couplée à une autre réaction $B \rightarrow C$ exergonique.

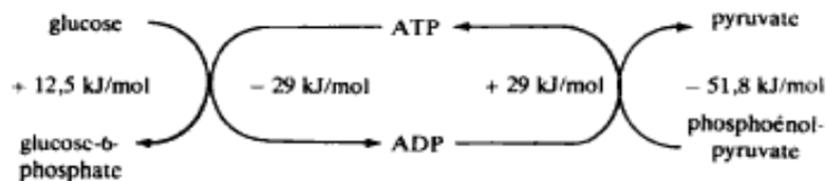
Avec :

$$[(\Delta G (B \rightarrow C) + \Delta G (A \rightarrow B))] < 0$$

Présence d'un intermédiaire commun aux deux réactions.

Le **couplage d'énergie** consiste à employer l'énergie dégagée par une réaction exergonique pour déclencher une réaction endergonique, en grande partie grâce à l'ATP.

- Dans la majorité des cas, l'ATP est la source d'énergie directe qui permet à la cellule de produire du travail.

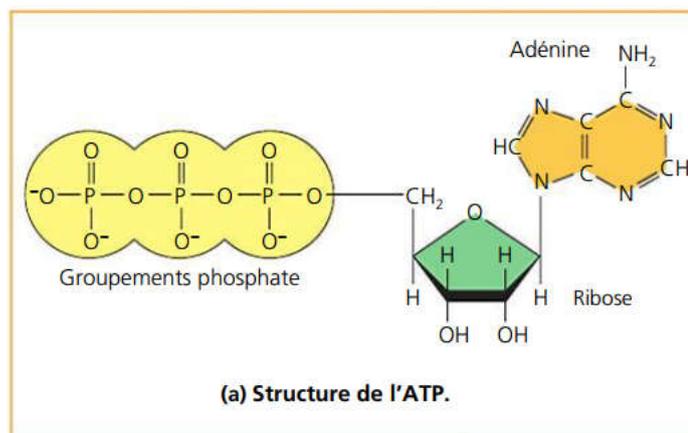


15

5- Liaisons à haut potentiel d'hydrolyse

a- La structure de l'ATP

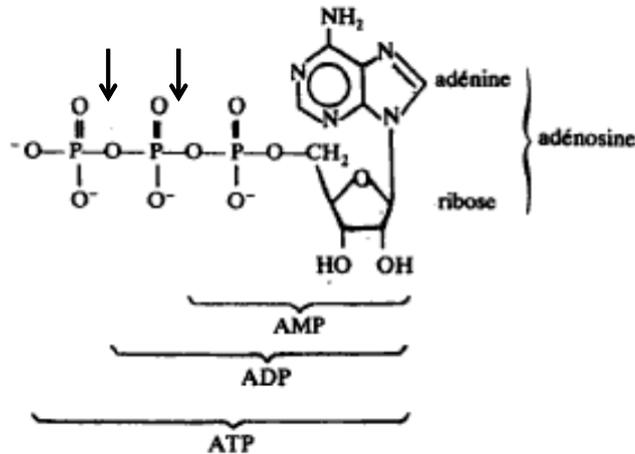
L'ATP (**adénosine triphosphate**) se compose du ribose, auquel sont liées la base azotée adénine et une chaîne de trois groupements phosphate.



16

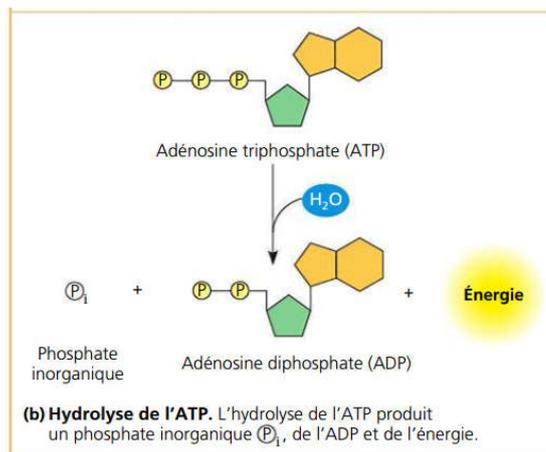
Caractéristiques d'ATP

- ATP (10^2 moles/cellule) = forme de stockage et de transport énergétique de la cellule.
- Deux liaisons riches en énergie.
- Durée de vie très brève (1 min) : renouvellement rapide.



17

b- L'hydrolyse de l'ATP



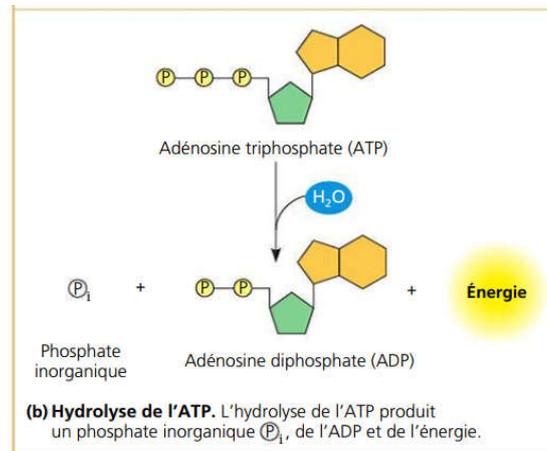
- Les liaisons entre les groupes phosphate de l'ATP peuvent être rompues par une réaction d'hydrolyse (H₂O).



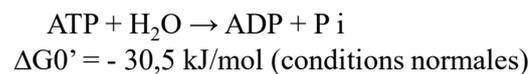
Libération de phosphate inorganique (HOPO₃²⁻) = Pi.

18

b- L'hydrolyse de l'ATP

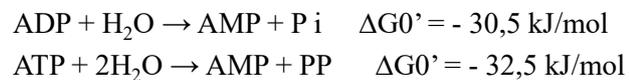


- Réaction exergonique; dégage 30,5 kJ d'énergie par mole d'ATP hydrolysée:



19

- L'ADP est encore riche en énergie. Et on obtient ensuite de l'AMP (adénosine monophosphate).
- Si on hydrolyse directement l'ATP pour donner l'AMP et le PP (pyrophosphate), on libère 32,5 kJ/mol.



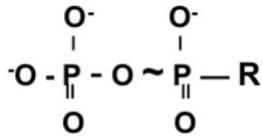
- *ATP est intéressante grâce à l'énergie qu'elle peut générer lors de son hydrolyse.*
- *Pour former cette molécule d'ATP, il faudra de l'énergie pour former ses liaisons.*

20

c - Liaisons riche en énergie : liaisons à haute potentiel d'hydrolyse.

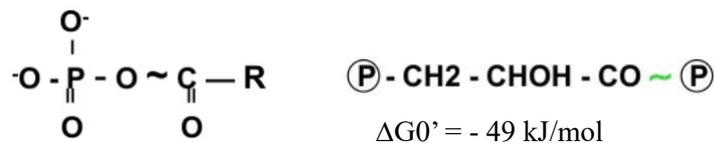
Leur hydrolyse est très exergonique : $\Delta G_0' < -25$ KJ/mol.

1- Liaison anhydride phosphorique : ATP



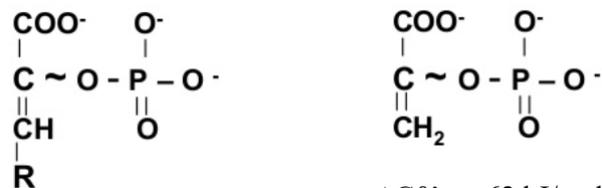
21

2- Liaison anhydride d'acide : 1,3 diphosphoglycérate



$$\Delta G_0' = - 49 \text{ kJ/mol}$$

3- Liaison énoil phosphate : Phosphoénol pyruvate (PEP)



$$\Delta G_0' = - 62 \text{ kJ/mol}$$

4- Liaison théoester : Acétyl CoA



$$\Delta G_0' = - 31 \text{ kJ/mol}$$

22

*d – Le classement énergétique des composées riches en énergie*Liaison riche en énergie si $\Delta G^0' < -25$ KJ/mol.

	$\Delta G^0'$ kJ/mol	
Phosphoénolpyruvate	- 61,9	Riche
1,3-Bisphosphoglycérate (\rightarrow 3-Phosphoglycérate + P _i)	- 49,3	
Créatine phosphate	- 43,0	
PPi (\rightarrow 2P _i)	- 33,4	
ATP (\rightarrow AMP + PP _i)	- 32,2	
Acétyl-CoA	- 31,4	
ADP (\rightarrow AMP + P _i)	- 30,5	
ATP (\rightarrow ADP + P _i)	- 30,5	
<hr/>		
Glucose-1-phosphate	- 20,9	Non Riche
Fructose-6-phosphate	- 15,9	
AMP (\rightarrow Adénosine + P _i)	- 14,2	
Glucose-6-phosphate	- 13,8	
Glycérol-1-phosphate	- 9,2	

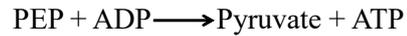
23

Notion de réaction couplée et d'intermédiaire commun

- Les réactions cellulaires de biosynthèse et de catabolisme nécessitent un apport d'énergie. Ce sont des réactions endergoniques. Cette énergie peut être fournie par une réaction exergonique.
- Il faut que les deux réactions concernées soient simultanées et se déroulent en un même lieu de la cellule. C'est rarement le cas.
- Lorsque cela est possible une partie de l'énergie fournie par une réaction exergonique est récupérée pour former de l'ATP, énergie chimique, qui peut être transportée d'un lieu à un autre.

24

- L'hydrolyse du phosphoénolpyruvate (PEP) est exergonique et son énergie sert à former de l'ATP dans la réaction retrouvée dans la glycolyse :



- La phosphorylation du glucose est une réaction endergonique. L'énergie dont elle a besoin sera fournie par l'ATP.

$$\text{Glucose} + \text{ATP} \longrightarrow \text{Glucose-6-phosphate} + \text{ADP}$$
- ATP est l'**intermédiaire commun** de ces deux réactions et ces 2 **réactions** sont dites ***couplées***. On dit qu'il y a ***couplage énergétique***.

25

Réactions d'oxydo-réduction et Potentiel d'oxydo-réduction

1- Notions d'oxydation et de réduction

Oxydation

Gain d'oxygène
 Perte d'hydrogène
 Perte d'électrons

Réduction

Perte d'oxygène
 Gain d'hydrogène
 Gain d'électrons

2- Réactions d'oxydo-réduction

- Dans une réaction d'oxydo-réduction il y a un couple d'oxydo-réduction constitué de 2 demi-réactions qui sont couplées:
 - un réducteur (donneur) qui fournit des H⁺ (et des électrons) et *s'oxyde*.
 - un oxydant (accepteur) qui capte des H⁺ (et des électrons) et *se réduit*.
- Le couple forme oxydée et forme réduite d'un même composé (AH₂/A) est appelé un couple Redox.

26

3- Potentiel d'oxydo-réduction standard

- Toute réaction d'oxydo-réduction est composée de 2 demi-réactions qui sont couplées et réversibles.

Exemple de couples : (AH₂/A) et (BH₂/B).

- Chaque demi-réaction est caractérisée par un potentiel d'oxydo-réduction E⁰.
- Le potentiel rédox E⁰ d'un couple d'oxydo-réduction (AH₂/A ou BH₂/B) mesure son affinité pour les électrons.
- Le potentiel rédox est une constante mesurée:
 - à 25°C.
 - à pH 7.
 - qui dépend de la concentration initiale des espèces oxydées et réduites.

27

Le potentiel redox (d'oxydoréduction) donné par la formule de NERNST :

$$E_A = E_A^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[A_{ox}]}{[A_{red}]}$$

[A_{red}], [A_{ox}] : concentrations des réactants en mol/l.

E_A : le potentiel redox du couple AH₂/A en Volt (V).

E_A⁰ : le potentiel redox standard ou de demi-vie en Volt (V).

n : le nombre d'électrons échangés

R : la constante des gaz parfaits égale à 8,314 J/mol/°K.

T : la température en degré Kelvin (°K).

F : la constante de Faraday égale à 96 500 coulombs.

28

- Mise en présence de 2 couples d'oxydo-réduction AH_2/A et BH_2/B :
le transfert des H^+ d'un couple à l'autre dépend du potentiel rédox de chaque couple : il se fait du couple qui a le potentiel le plus bas vers celui qui a le potentiel le plus élevé.
- Si le potentiel rédox du couple B est plus élevé que celui du couple A : $E_B > E_A$
B = l'oxydant = potentiel le plus élevé
 AH_2 = le réducteur = potentiel le plus bas
 $\Delta E = E_B - E_A > 0$, on aura:
 $AH_2 + B \longrightarrow A + BH_2$

29

Potentiels de réduction standard des transporteurs d'électrons impliqués dans la chaîne respiratoire

Réaction redox (demi-réaction)		E^0 (V)
$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$		- 0,414
$NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NADH + H^+$		- 0,320
$NADP^+ + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NADPH + H^+$		- 0,324
$FAD \rightarrow FADH_2$		
Ubiquinone + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ Ubiquinol		+ 0,045
Cytochrome <i>b</i> (Fe^{3+}) + $e^- \rightarrow$ Cytochrome <i>b</i> (Fe^{2+})		+ 0,077
Cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe^{3+}) + $e^- \rightarrow$ Cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe^{2+})		+ 0,220
Cytochrome <i>c</i> (Fe^{3+}) + $e^- \rightarrow$ Cytochrome <i>c</i> (Fe^{2+})		+ 0,254
Cytochrome <i>a</i> (Fe^{3+}) + $e^- \rightarrow$ Cytochrome <i>a</i> (Fe^{2+})		+ 0,290
Cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe^{3+}) + $e^- \rightarrow$ Cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe^{2+})		+ 0,550
$1/2 O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$		+ 0,816

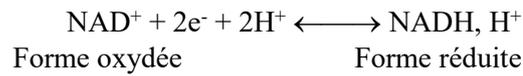
Force réductrice ↑

↓ Force oxydante

30

NAD⁺ Coenzyme des déshydrogénases

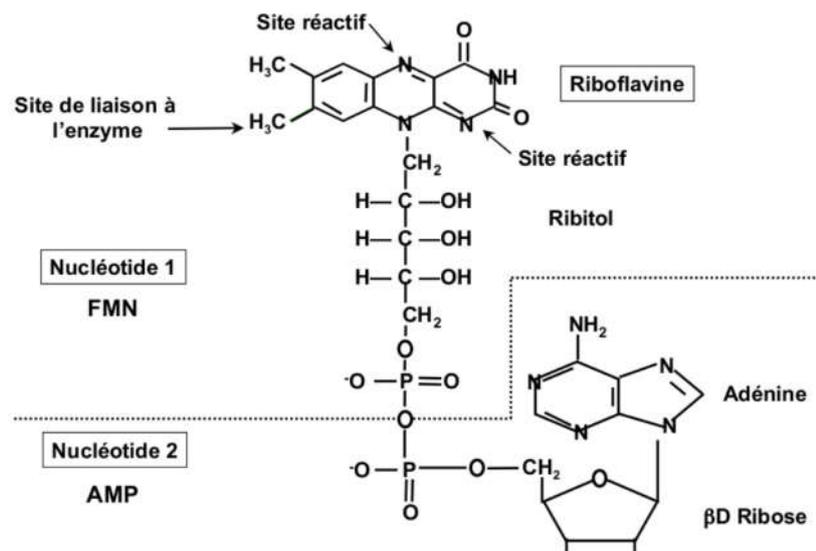
La réaction de réduction est la suivante :



- Le NAD⁺ est une coenzyme libre : sa liaison aux enzymes est réversible.
 - Caractéristiques : - ne traverse pas la membrane mitochondriale.
- d'où 2 pools intracellulaires: ↗ cytosolique
↘ mitochondrial

33

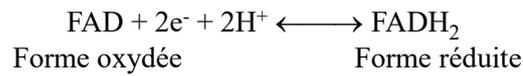
Flavine Mononucléotide FMN Flavine Adénine Dinucléotide FAD



34

FAD Coenzyme des déshydrogénases

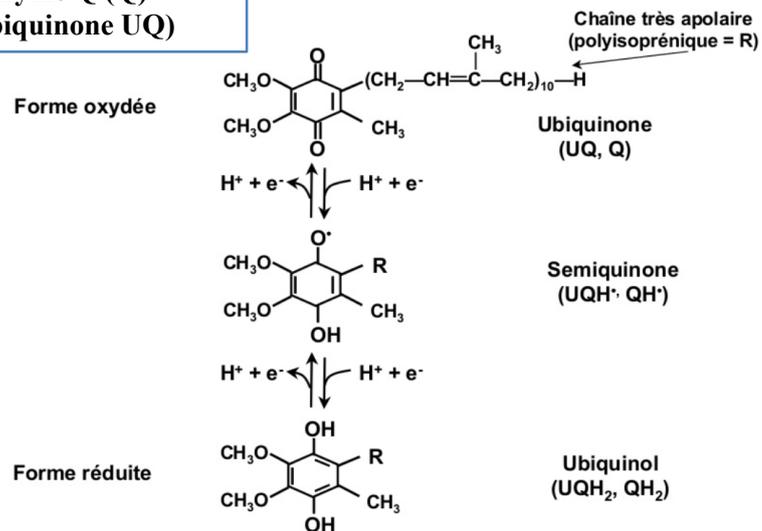
La réaction de réduction est la suivante :



- Caractéristiques : - coenzymes liés à des flavoprotéines.
- enzymes présentes dans la membrane interne de la mitochondrie.

35

Coenzyme Q (Q) (Ou Ubiquinone UQ)



- Caractéristiques : - coenzyme mobile peut échanger des électrons avec d'autres coenzymes.

36

Coenzyme héminique
Les cytochromes

- Hème = Protoporphyrine IX + Fer (hémoglobine, cytochrome b)
- Noyau tétrapyrrolique

vinyl

propionyl

$$2 \text{ Cyt Fe}^{3+} + 2 e^- \rightleftharpoons 2 \text{ Cyt Fe}^{2+}$$

Forme oxydée Forme réduite

- Caractéristiques : - coenzymes d'oxydo-réduction.
- transporteurs d'électrons.

37

المدرسة العليا للتكنولوجيا - العيون
 +٤١٢٢١ ٤٥٥٤٧٧٧٥٠٤١ +٤٣٢١٥٧٤٣٤٠ - ٧٧٤٣٤١
 ÉCOLE SUPÉRIEURE DE TECHNOLOGIE - LAËYOUNE

Biochimie métabolique

Cinétique enzymatique

Génie Agrobiologie
Semestre 2

Pr. F. FAHMI

Année universitaire 2019/2020

38

1- Généralités

1- Les enzymes sont les catalyseurs biologiques des réactions biochimiques :

- Catalyseurs

- * Ils augmentent la vitesse de réactions chimiques, sans modifier les résultats, en agissant à de très faibles concentrations.
- * Ils se trouvent intacts (inchangés) à la fin de la réaction.

- Biologiques

- * Ils sont produits par la cellule : les enzymes sont des protéines

2- Substrat

Molécule qui entre dans une réaction pour y être transformée grâce à l'action catalytique d'une enzyme.

3- Produit

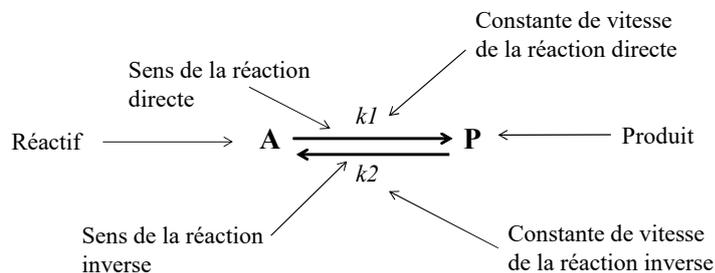
Molécule qui apparaît au cours d'une réaction catalysée par une enzyme suite à la transformation de substrat.

39

2- Définition de la cinétique enzymatique

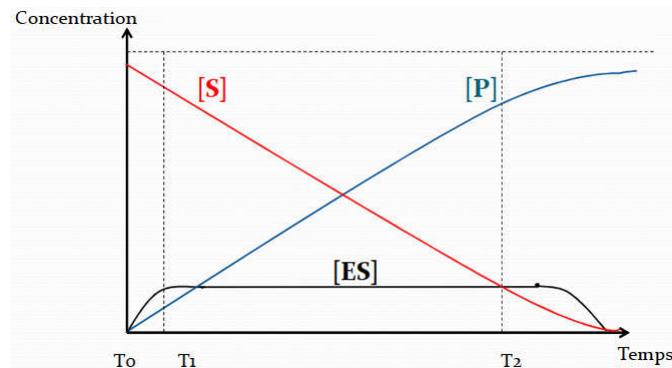
C'est l'étude des vitesses de réactions et de leurs modifications en réponse aux changements des conditions expérimentales.

Les intervenants d'une réaction:



40

3- Différentes phases de la réaction enzymatique



[S] : concentration du substrat, [P] concentration du produit,
[ES] concentration de la combinaison enzyme-substrat

Evolution de la cinétique enzymatique

41

Phases de la réaction enzymatique

Différentes phases	Pré-stationnaire (T0 – T1)	Stationnaire (T1 – T2)	Post stationnaire (T2 - ∞)
Caractéristiques	Enzyme mise en présence d'excès de substrat Combinaison ES très rapide	Enzyme saturée par le substrat Combinaison ES est à concentration maximale constante: Vitesse initiale (Reste constante tant que le substrat est à concentration saturante de l'enzyme)	Diminution de S de manière significative au bout d'un temps plus au moins long selon l'enzyme

Grande quantité en S : La vitesse de la réaction est indépendante de la concentration en substrat : **Réaction d'ordre 0**

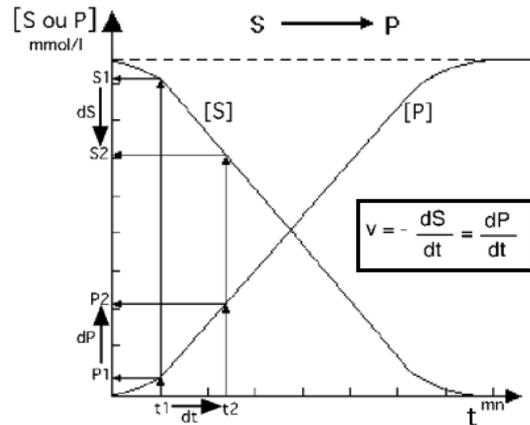
Faible quantité de S : La vitesse de la réaction est proportionnelle à la concentration en substrat : **Réaction d'ordre 1**

Travailler en concentration saturante en substrat

42

4- La vitesse de la réaction ou taux de catalyse

Elle est définie par la quantité de substrat transformé (dS) par unité de temps (dt) ou la quantité de produit apparu (dP) par unité de temps (dt).

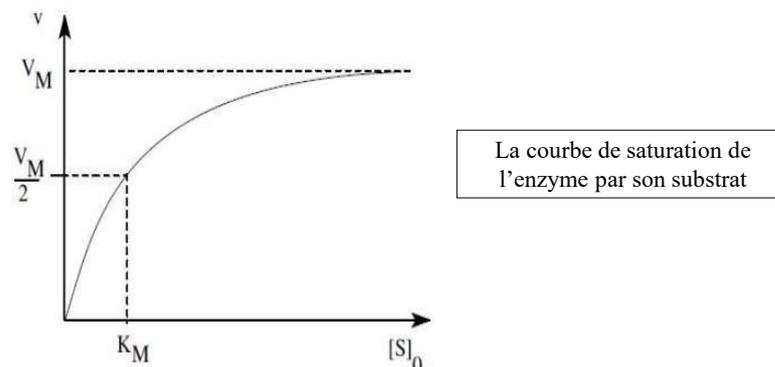


Notion de vitesse d'une réaction enzymatique

43

5- Notion de vitesse initiale

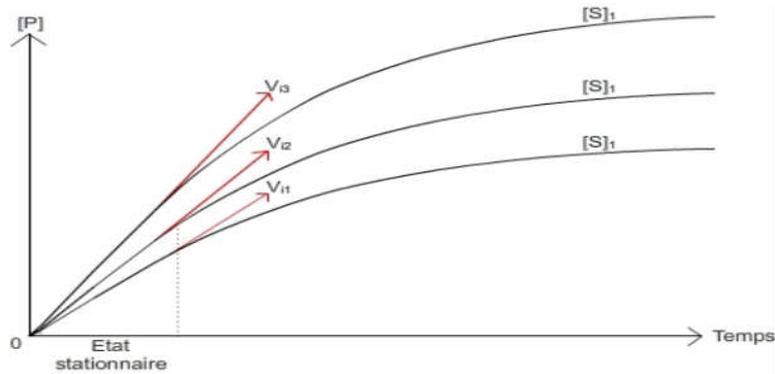
La vitesse de la réaction enzymatique augmente avec la concentration de substrat jusqu'à atteindre la vitesse maximale V_M (saturation de l'enzyme par S).



- La vitesse initiale est la vitesse tout au début de la réaction ;
- La phase initiale (pré-stationnaire) est très brève=> vitesse initiale est la vitesse à la phase stationnaire ou l'enzyme est saturée par son substrat.
- La vitesse étudiée est toujours la vitesse initiale.

44

- La vitesse initiale augmente si on augmente la concentration de substrat :

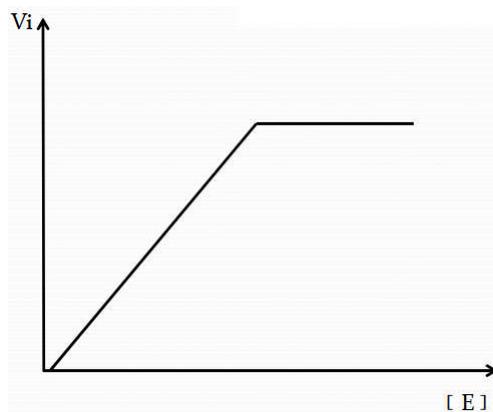


Influence de la concentration de S sur V_i

45

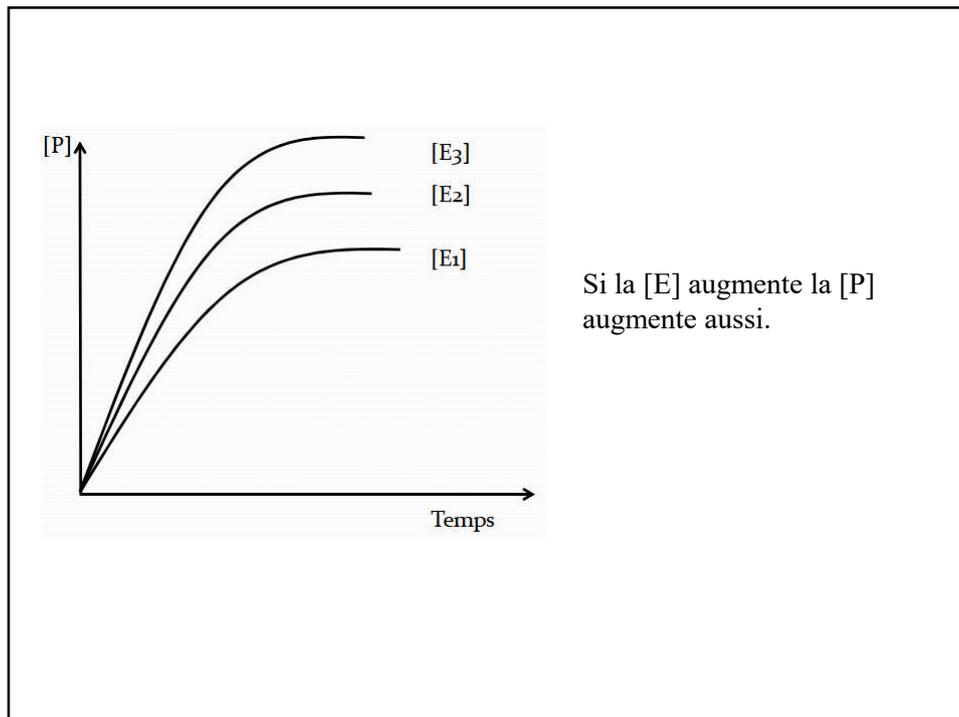
6- Influence de concentration de l'enzyme sur la vitesse initiale

Lorsque la concentration de l'enzyme augmente \Rightarrow la vitesse initiale augmente aussi.



V_i est proportionnelle à la $[E]$ dans un premier temps, puis elle demeure constante pour des concentrations enzymatiques plus élevées

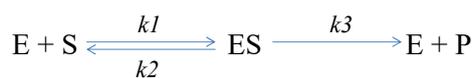
46



47

7- La cinétique michaelienne

Soit la réaction enzymatique (1) :



a- Etablissement de l'équation de Michaélis-Menten (1913)

Conditions d'établissement :

- La concentration de produit doit être négligeable par rapport à celle du substrat pour éviter la réaction inverse.
- La concentration du complexe ES doit être constante au cours du temps.

La réaction (1) se décompose en deux étapes : formation du complexe ES (2) et sa dissociation (3) :



48

La vitesse de disparition du substrat est égale à la vitesse d'apparition du produit (vitesse de la réaction enzymatique):

$$(4) \quad v = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

La vitesse de disparition du substrat est égale à la différence des vitesses V_1 et V_2 de l'équation (2) :

$$-\frac{d[S]}{dt} = V_1 - V_2$$

D'après la loi d'action des masses: $V_1 = k_1 [E] [S]$ et $V_2 = k_2 [ES]$

D'après la réaction (3), la vitesse d'apparition du produit est :

$$V_3 = k_3 [ES]$$

$$(5) \quad \frac{d[P]}{dt} = V_3 = k_3 [ES]$$

Si on remplace dans (4) : $V_1 - V_2 = V_3$

$$\times \quad k_1 [E] [S] - k_2 [ES] = k_3 [ES]$$

$$\times \quad k_1 [E] [S] = [ES] (k_2 + k_3) \Rightarrow [E] [S] / [ES] = (k_2 + k_3) / k_1$$

$$\times \quad K_m = (k_2 + k_3) / k_1 \quad (6)$$

49

K_m : constante de **Michaélis**, constante de dissociation du complexe enzyme-substrat.

Equation de Michaélis-Menten

Soit : $[E_t]$ la concentration totale de l'enzyme.

La concentration libre de l'enzyme sera : $[E] = [E_t] - [ES]$

L'expression de la constante de Michaélis devient :

$$\begin{aligned} K_m &= [E] [S] / [ES] = ([E_t] - [ES]) [S] / [ES] \\ &= ([E_t] [S] / [ES]) - ([ES] [S] / [ES]) = ([E_t] [S] / [ES]) - [S] \\ \Rightarrow K_m + [S] &= ([E_t] [S] / [ES]) \end{aligned}$$

$$\times \quad (7) \quad [ES] = [E_t] [S] / (K_m + [S])$$

Or, la vitesse de la réaction enzymatique est égale à V_3 :

(8) $V = V_3 = k_3 [ES]$, en remplaçant $[ES]$ (7) dans la relation 8 :

$$(9) \quad V = k_3 [E_t] [S] / (K_m + [S])$$

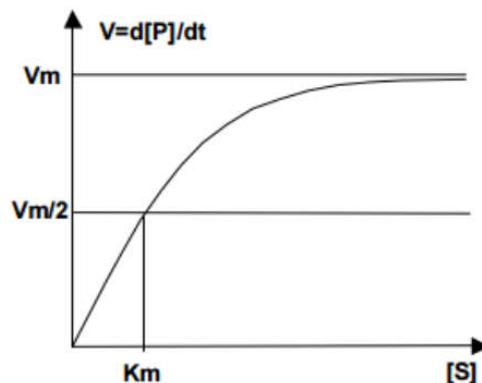
50

D'après l'équation (8), la vitesse sera maximale (V_{max}) lorsque $[ES]$ sera maximale : lorsque la totalité de l'enzyme est combinée au substrat : $[ES] = [Et]$

(10) $V_{max} = k_3 [Et]$, l'équation (9) devient :

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

Equation de Michaelis-Menten



51

Signification de la vitesse maximale V_{max} et constante de Michaelis K_m

❖ V_{max}

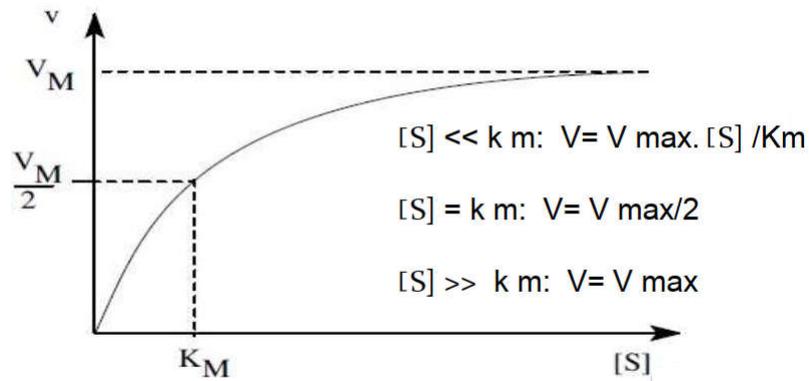
- ✓ Correspond à la vitesse initiale quand l'enzyme est saturée par son Substrat
- ✓ Renseigne sur l'efficacité catalytique de l'enzyme $V_{max} = k_3 [Et]$
 $\Rightarrow V_{max} = k_{cat}[Et]$
- ✓ k_{cat} : Turn Over Number « TNO », nombre de molécules de substrat transformé en produit par unité de temps, c'est l'efficacité catalytique de l'enzyme: la fréquence de l'acte catalytique (s^{-1}).

❖ K_m

- ✓ Affinité de l'enzyme pour le substrat, K_m est d'autant plus élevée que l'affinité de l'enzyme pour le substrat est plus faible (inversement proportionnelle à l'affinité).
- ✓ Concentration initiale de substrat pour laquelle $V_i = 1/2 V_{max}$, donc la moitié des sites actifs de l'enzyme est occupée par le substrat.

52

- Quand $[S] \gg \gg K_M$
 $V_i = V_{\max} = k_{\text{cat}}[Et]$
- Quand $[S] \ll \ll K_M$
 $V_i = (k_{\text{cat}} / K_M) [Et] [S]$



k_{cat} / K_M : constante de **spécificité** liée au substrat, permet de déterminer le meilleur substrat pour une enzyme.

53

Exemple de constantes de Michaélis, catalytique et spécifique de quelque enzymes

Enzyme	Substrat	K_M (M)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_M ($\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$)
Acétylcholinestérase	Acétylcholine	9.5×10^{-5}	1.4×10^4	1.5×10^8
Anhydrase carbonique	CO_2	1.2×10^{-2}	1.0×10^6	8.3×10^7
	HCO_3^-	2.6×10^{-2}	4.0×10^5	1.5×10^7
Catalase	H_2O_2	2.5×10^{-2}	1.0×10^7	4.0×10^8
Chymotrypsine	Ester éthylique de N-Acétyleglycine	4.4×10^{-1}	5.1×10^{-2}	1.2×10^{-1}
	Ester éthylique de N-Acétylevaline	8.8×10^{-2}	1.7×10^{-1}	1.9
	Ester éthylique de N-Acétyletyrosine	6.6×10^{-4}	1.9×10^2	2.9×10^5
Fumarase	Fumarate	5.0×10^{-6}	8.0×10^2	1.6×10^8
	Malate	2.5×10^{-5}	9.0×10^2	3.6×10^7
Uréase	Urée	2.5×10^{-2}	1.0×10^4	4.0×10^5

54

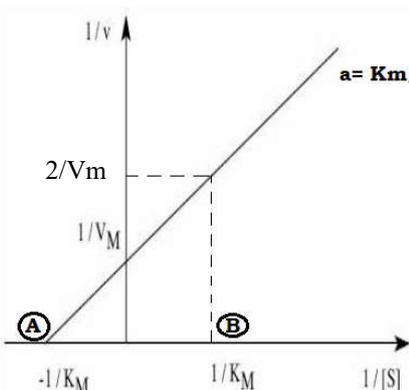
b- Détermination de la constante de Michaelis : méthode graphique de Lineweaver et Burk

L'équation de Michaelis peut s'écrire sous la forme:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m} \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_m}$$

C'est l'équation d'une droite sous forme : $y = ax + b$

Ou $1/V = f(1/[S])$ ou : $a = K_m/V_{max}$, $b = 1/V_{max}$



- Pour $1/V = 0 \Rightarrow 1/[S] = -1/K_M$

.....point (A)

- Pour $1/V = 2/V_{max} \Rightarrow 1/[S] = 1/K_M$

.....point (B)

55

8- Détermination de l'activité enzymatique

La détermination la plus utilisée est la mesure cinétique : en mesurant la disparition du substrat ou l'apparition du produit en fonction du temps. Cette mesure est possible par la mesure de la variation d'absorbance ΔA .

L'absorbance est donnée par la loi de Beer-Lambert :

$A = c \cdot \epsilon \cdot l$ donc :

$$\frac{\Delta A}{\Delta t} = \frac{\Delta c}{\Delta t} \cdot \epsilon \cdot l = V_0 \cdot \epsilon \cdot l$$

l : longueur de la cuve 1 cm.

ϵ : coefficient d'extinction molaire $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$

Δc : variation de la concentration.

Activité enzymatique $\Delta E = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{V_t}{V_e} \times \frac{10^6}{\epsilon \cdot l}$

ΔA : variation de l'absorbance.

$\Delta A/\Delta t$: 1/min.

V_t : volume total.

V_e : volume échantillon.

56

L'unité enzymatique

Unité internationale:

Quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation d'une micromole de substrat par min, dans des conditions optimales de mesure

$$UI = \mu\text{mol}/\text{min} = \text{Activité enzymatique} = V_{\text{max}}$$

Katal:

Quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une mole de substrat par seconde

Activité enzymatique spécifique:

Nombre de molécules de substrat transformées par min et par milligramme d'enzyme

$$\frac{\mu\text{mol}/\text{min}}{\text{mg de protéine}} = \frac{UI}{\text{mg de protéine}}$$

Mesure le degré de pureté d'une préparation enzymatique

Activité enzymatique moléculaire:

Nombre de molécules de substrat transformées par min et par molécule d'enzyme

$$\frac{\mu\text{mol}/\text{min}}{\mu\text{mol de protéine}} = \frac{UI}{\mu\text{mol de protéine}}$$

57

9- Les facteurs influençant la réaction enzymatique

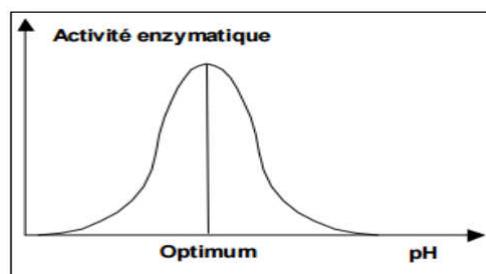
a- Les facteurs physico-chimiques

a-1- Effet de pH

Le pH intervient de deux manières différentes soit par:

- Modification de la structure de l'enzyme.
- Modification de la conformation du site actif et celle de substrat.

pH optimum : activité enzymatique est optimale.

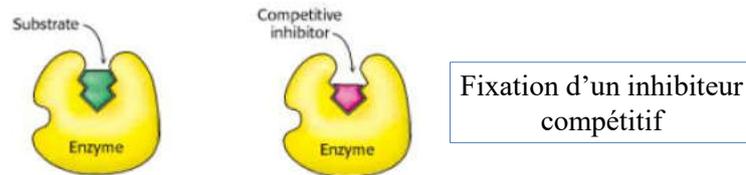


58

b-1- Les inhibiteurs réversibles

- Les inhibiteurs compétitifs

- Sont des analogues structuraux du substrat S (se fixent sur le même, site actif que le substrat).



- L'affinité de l'enzyme au substrat diminue => K_m augmente.

$$K_m = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

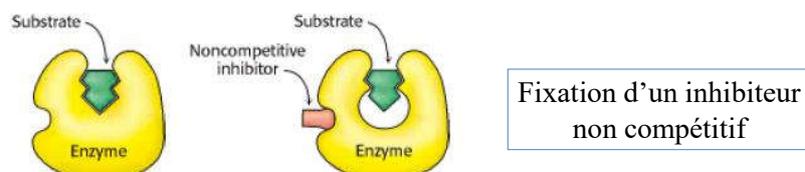
- La V_{max} est inchangée.
- L'inhibition est levée par un excès de substrat.

$$v = v_{max} \frac{[S]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} \quad \frac{1}{v} = \frac{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

61

- Les inhibiteurs non compétitifs

- Se combinent à l'enzyme à un site différent à celui du substrat.



- L'affinité de l'enzyme n'est pas modifiée, K_m inchangée.
- La V_{max} diminue.

$$V_m = \frac{V_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

$$v = \frac{v_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \frac{1}{v} = \frac{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{v_{max}}$$

62

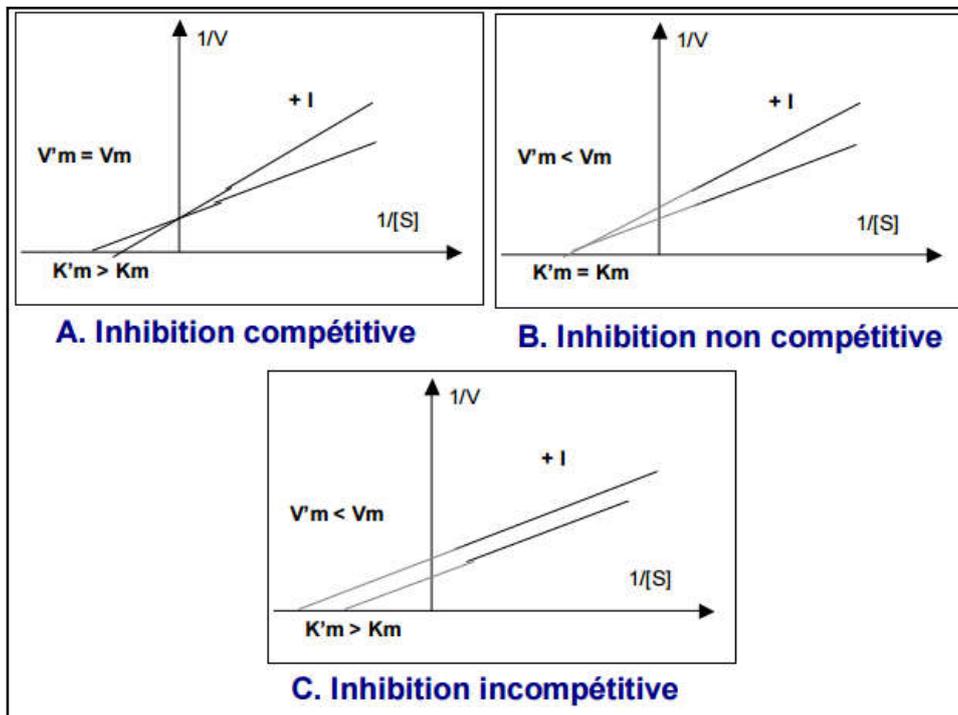
- Les inhibiteurs incompétitifs

- L'inhibiteur ne se fixe pas à l'enzyme libre mais à la combinaison ES.
- Modification de K_m , et de V_{max} :

$$K'_m = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \quad V'_m = \frac{V_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{max}} + \frac{1}{v_{max}} \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{[S]}$$

63



64

b-2- Les inhibiteurs irréversibles

Ils se lient de façon covalente à site important de l'enzyme entraînant une inhibition définitive, l'inhibiteur est dit inhibiteur suicide.

b-3- Les activateurs

Plusieurs types existent :

- **Les ions métalliques** : ils favorisent une bonne fixation de l'enzyme, participent à la catalyse, ex : l'ADN polymérase nécessite le Mg^{2+} .
- **La protéolyse limitée (Pro-enzyme)**: par clivage spécifique de liaisons peptidiques, permettant l'apparition du site actif, ex : la chymotrypsine.
- **Modifications covalentes**: l'enzyme peut exister entre deux formes interconvertibles, l'une active et l'autre non-active, ex : phosphorylation et déphosphorylation

65

المدرسة العليا للتكنولوجيا - العيون
 +2121 40.00.00000 | +2121 81818181 - 114700
 ÉCOLE SUPÉRIEURE DE TECHNOLOGIE - LAÂYOUNE



Biochimie métabolique

Notion de catabolisme et d'anabolisme

Génie Agrobiologie
 Semestre 2

Pr. F. FAHMI

Année universitaire 2019/2020

66

1- L'Anabolisme et catabolisme

Anabolisme

- Ensemble des réactions, responsables de la synthèse des produits complexes à partir d'éléments ou de molécules simples.
- Cette phase nécessite un apport énergétique suffisant.

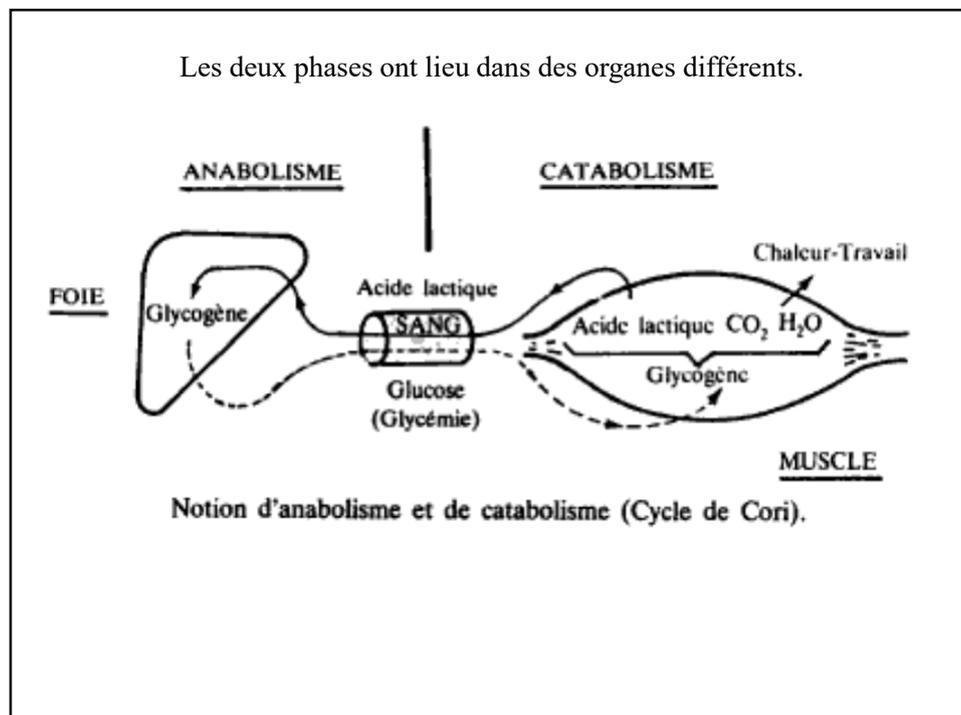
Catabolisme

- Dégradation de molécules complexes avec la formation de déchets et une production plus ou moins importante d'énergie.

Exemple

- La dégradation du glycogène musculaire en acide lactique $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$ et son oxydation dioxyde de carbone et eau, lors d'une contraction, s'accompagnent d'une libération d'énergie et parfois d'un travail ; c'est du catabolisme.
- La synthèse hépatique de glycogène à partir de l'acide lactique musculaire transporté par le sang représente de l'anabolisme.

67



68

2- L'autotrophie et l'hétérotrophie

- Certains organismes peuvent réaliser la synthèse de tous leurs constituants uniquement à partir de composés minéraux, mais une source d'énergie est indispensable.
- Ces organismes dits **autotrophes** sont capables d'introduire un apport d'énergie extérieure (É chimique ou É lumineuse).

Selon la forme d'énergie on distingue :

- ✘ **Les autotrophes par photosynthèse** (*phototrophes*) : utilisent l'énergie lumineuse par l'intermédiaire de leurs pigments chlorophylliens
- ✘ **Les autotrophes par chimiosynthèse** (*chimiolithotrophes*) : l'énergie provient des réactions d'oxydation portant sur des composés minéraux, dérivés de l'azote et du soufre.
- L'énergie capturée par les autotrophes est emmagasinée au cours de l'anabolisme sous forme d'énergie chimique dans les glucides en particulier.
- Elle sera libérée et utilisée au cours des réactions du catabolisme.

69

- Les autres organismes ont besoin de matières organiques diverses fournissant à la fois la matière et l'énergie : ce sont des **hétérotrophes** (*chimio-organotrophes*).
- Ils sont incapables de capturer et d'utiliser l'énergie lumineuse.
- Chez les hétérotrophes l'énergie nécessaire aux synthèses provient de l'oxydation des substances organiques au cours de phénomènes de la respiration et des fermentations.

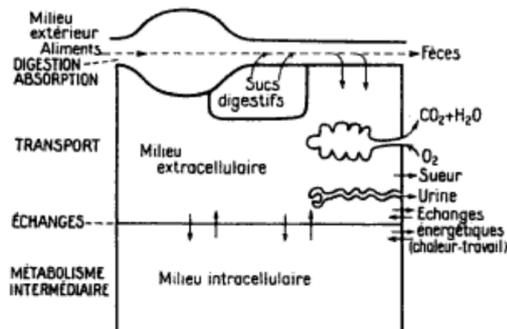
Dans le monde biologique il existe une circulation continue de matière et d'énergie entre organismes.

- ➡ La circulation de matière s'effectue sous forme d'un cycle entre les autotrophes (végétaux chlorophylliens, certaines bactéries) et les hétérotrophes (animaux, bactéries...)
- ➡ La circulation d'énergie s'effectue au contraire sous forme d'un courant irréversible lié à une dégradation de l'énergie et à la libération d'énergie.

70

3- L'équilibre dynamique

Pour une cellule, anabolisme et catabolisme sont équivalents à deux flux matériels et énergétiques opposés.



Schémas des échanges des organismes humains

- Chaque cellule est un système ouvert, c'est-à-dire échangeant à la fois matière et énergie, qui peut atteindre un état stable.
- L'état d'équilibre est la conséquence d'un renouvellement permanent ou « Turn-over » et on parle pour cette raison d'équilibre dynamique.

71

المدرسة العليا للتكنولوجيا - العيون
 +2121 40000000 | +2121 8111111
 ÉCOLE SUPÉRIEURE DE TECHNOLOGIE - LAÂYOUNE



Biochimie métabolique

Glycolyse et Fermentation

Génie Agrobiologie
 Semestre 2

Pr. F. FAHMI

Année universitaire 2019/2020

72

I- GLYCOLYSE

Introduction

- La **Glycolyse** est une voie de **dégradation du glucose** avec production d'**ATP** et des **métabolites intermédiaires** qui vont être repris par d'autres voies métaboliques.
- Elle se déroule entièrement dans le **cytosol** : fraction liquide du cytoplasme.
- La glycolyse conduit à la formation de :
 - **2 ATP**,
 - **2 NADH, H⁺** et
 - **2 Pyruvates**
- Au cours de la glycolyse anaérobie (en absence d'oxygène): le pyruvate se transforme selon l'équipement enzymatique de la cellule soit en:
 - Lactate: le glucose subit une fermentation lactique
 - Éthanol: le glucose subit une fermentation alcoolique

73

1- Les étapes enzymatique de la glycolyse

- La glycolyse est une série de 10 réactions enzymatiques catalysées par 10 enzymes.
- Elle est divisée en deux grandes phases :
 - une 1ère phase au cours de la quelle :
 - le glucose se transforme en **Glycéraldéhyde 3-[Ⓢ]**.
 - Cette phase est consommatrice de l'ATP
 - une 2ème phase, au cours de la laquelle:
 - **Le Glycéraldéhyde 3-[Ⓢ]** s'oxyde pour donner **1 Pyruvate, 2 ATP et 1 NADH, H⁺**
 - Phase commune à tous les hexoses

74