

Chapitre 5

# Inhibition et Régulation des enzymes

Pr. Bertrand TOUSSAINT

# Plan du cours

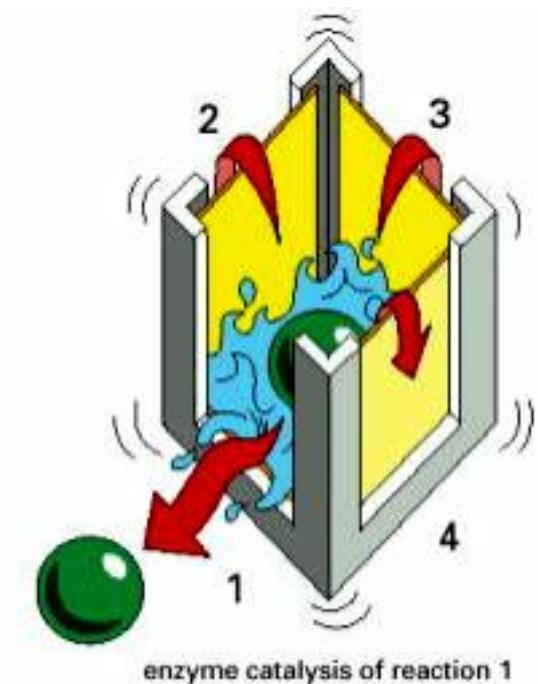
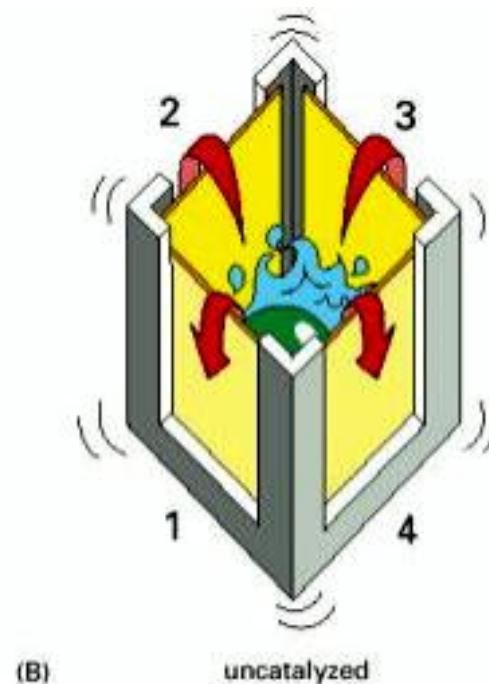
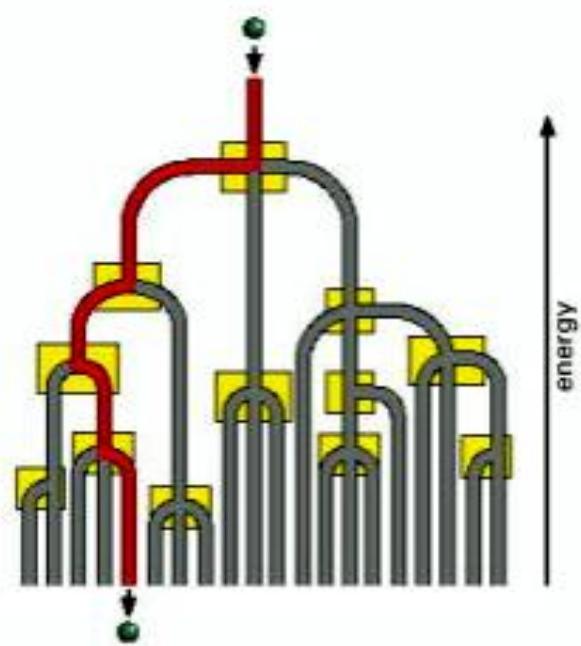
- Intérêt de la régulation des enzymes
- Isoenzymes
- Différents modes de régulation des enzymes
- Les inhibiteurs irréversible : exemple
- Les inhibiteurs réversibles
- L'allostéries
- Exemple intégratif : régulation de la glycogène phosphorylase.

# Objectifs pédagogiques du cours

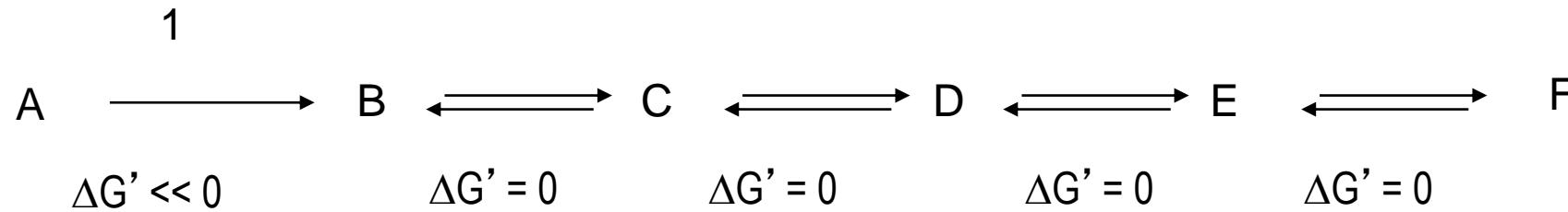
- Comprendre l'intérêt de la régulation de l'activité enzymatique
  - pour les besoins de l'organisme selon les organes
  - pour la thérapeutique
- Connaître les principaux modes de régulation ou d'inhibition des enzymes
- Intégrer ces connaissances sur un exemple : le métabolisme du glycogène

# Régulation des enzymes

- Les enzymes permettent de choisir le chemin métabolique utilisé à un moment donné



# Régulation du métabolisme



si présence de A : Réaction 1 se déroulera de manière spontanée dans le sens de la production de B

En fait, réaction 1 catalysée par une enzyme dont l'activité de catalyseur ou dont la présence peut être contrôlée par la cellule.

Si enzyme 1 active ou présente : la voie métabolique fonctionne.

# Notion d' Isoenzymes

- Chacune des plusieurs centaines de réactions du métabolisme est catalysée par une enzyme qui est spécifique du (des) substrat et du (des) produit de la réaction.
- La même réaction ne doit pas être catalysée de la même manière selon le type d'organe (cœur, foie,...)
- Isoenzymes
  - Issus de gènes différents,
  - ou composition différente en sous-unité (cf LDH)
- Isoenzymes ou isoformes sont exprimés dans des cellules ; tissus; temps différents
- Catalysant la même réaction
- N' ayant pas les même mode de régulation ou les mêmes  $K_M$  ou  $k_{cat}$ .

# Isoenzymes : lactate déhydrogénase

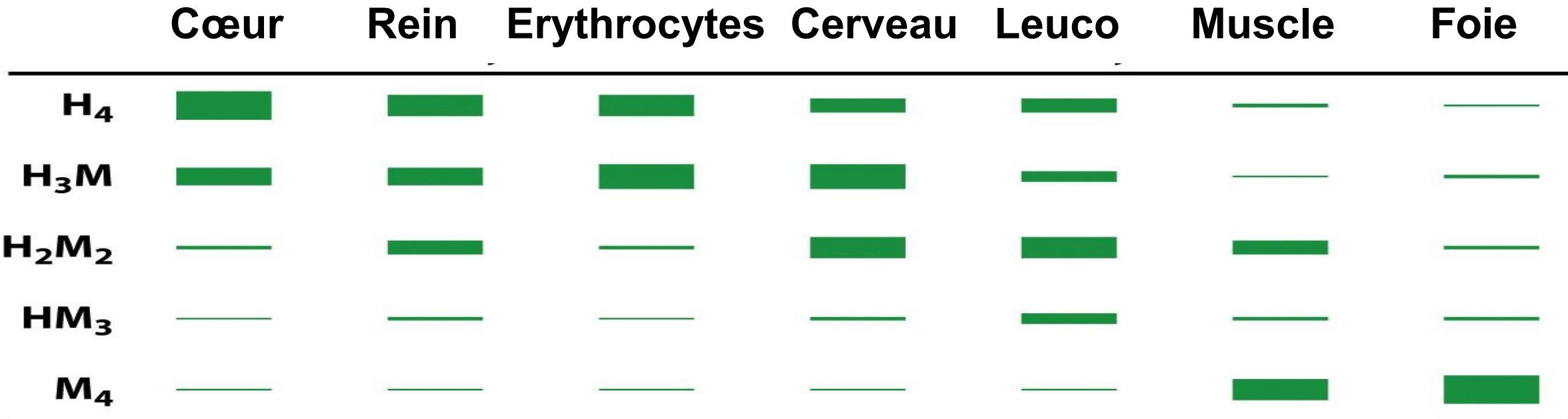
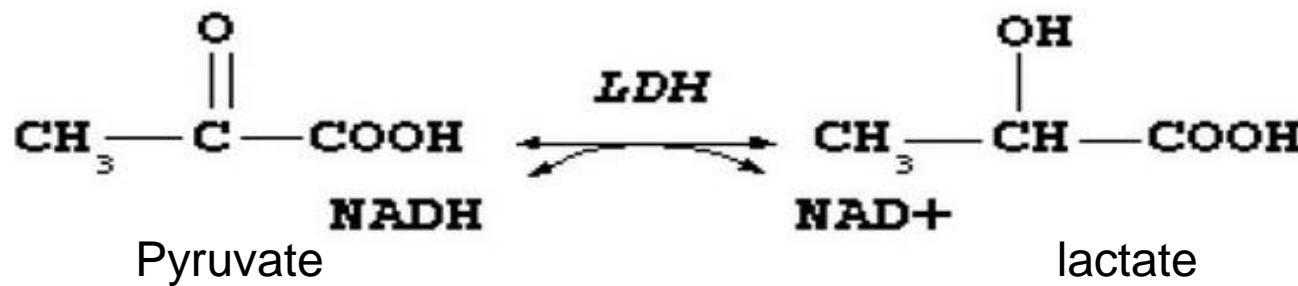


Figure 10-16b

*Biochemistry, Sixth Edition*

© 2007 W. H. Freeman and Company

# Régulation des enzymes

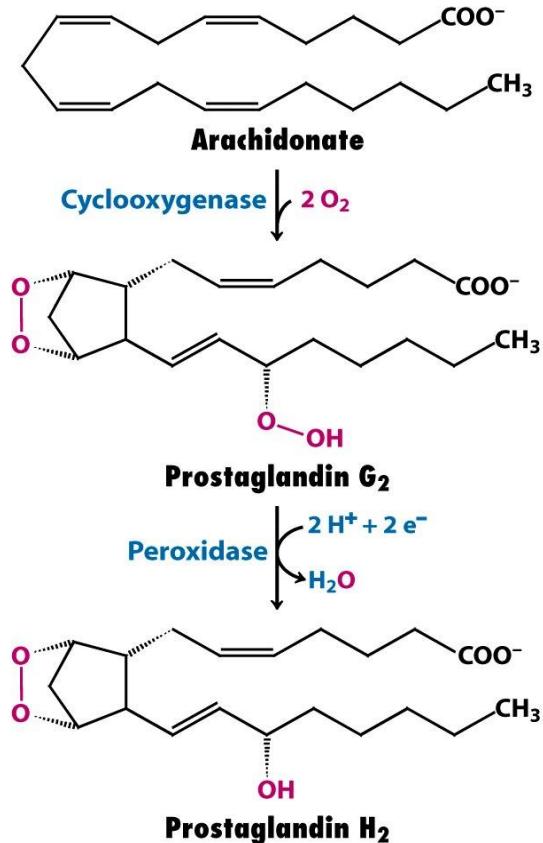
- Niveau d' expression : quantité d' enzyme
- Régulation par fixation d' une protéine régulatrice :
  - activation ou inhibition
- Activation par protéolyse limitée : l' enzyme a besoin d' être clivée pour devenir active
- Contrôle par modification covalente
  - Phosphorylation/déphosphorylation (kinases, phosphatases)
- Inhibiteurs (exemple des médicaments)
- Régulation allostérique de l'activité

# Inhibiteurs enzymatiques

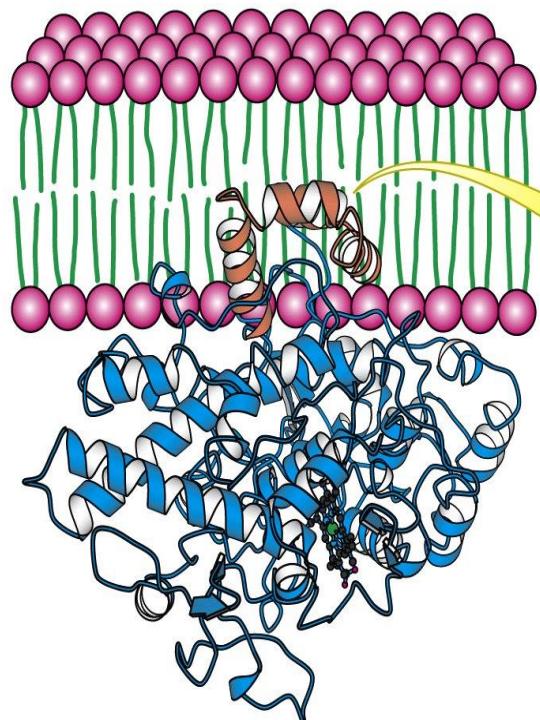
- Inhibition non réversible :
  - Fixation covalente d'une petite molécule qui diminue l'activité enzymatique
- Inhibition Réversible : 2 cas principaux
  - Inhibition compétitive : une petite molécule qui ressemble au substrat de l'enzyme se fixe au site actif : augmentation de  $K_M$
  - Inhibition non compétitive : une petite molécule diminue la fréquence d'action de l'enzyme (le turn-over) : baisse du  $K_{cat}$

# Inhibition Irréversible

## exemple 1 : aspirine



**Figure 12-22**  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W.H.Freeman and Company



**Figure 12-23**  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
 © 2007 W.H. Freeman and Company



## Aspirin (Acetylsalicylic acid)

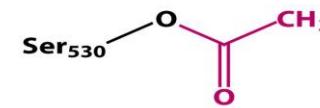
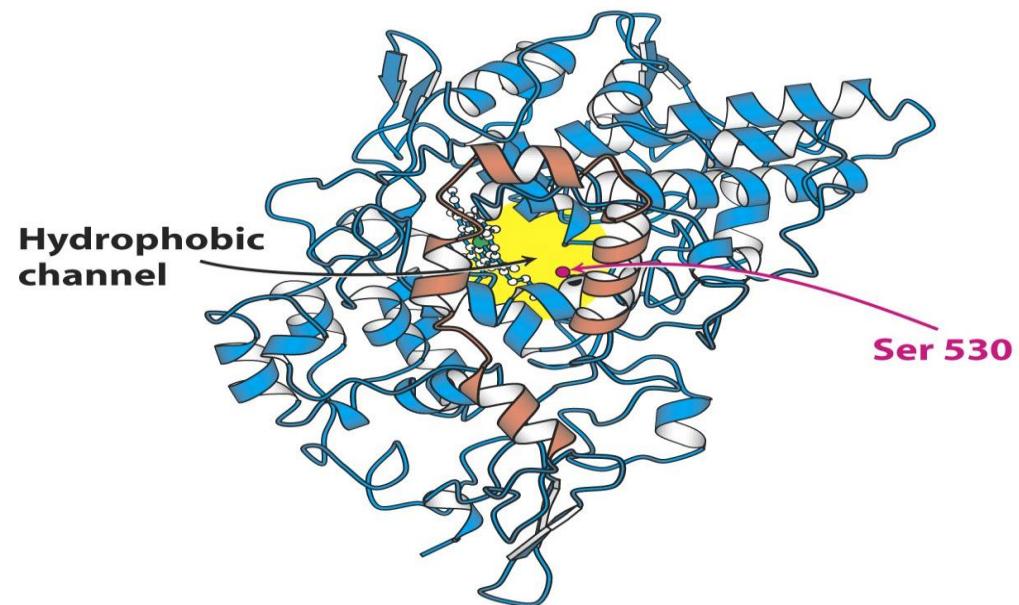


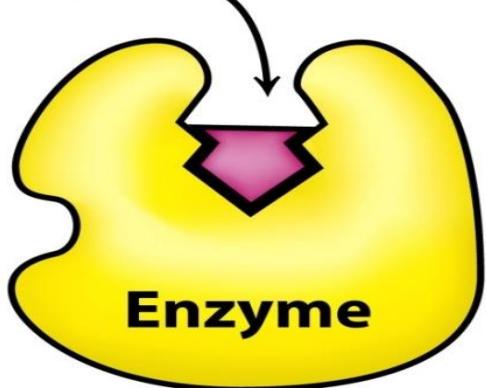
Figure 12-25  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W. H. Freeman and Company



**Figure 12-24**  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W. H. Freeman and Company

# Inhibition compétitive

Competitive inhibitor



Pas de complexe ESI

I ressemble à S et I' empêche de se fixer

Diminution du nombre de ES

Levée par augmentation de S

Idem augmentation de Km, Vmax inchangée

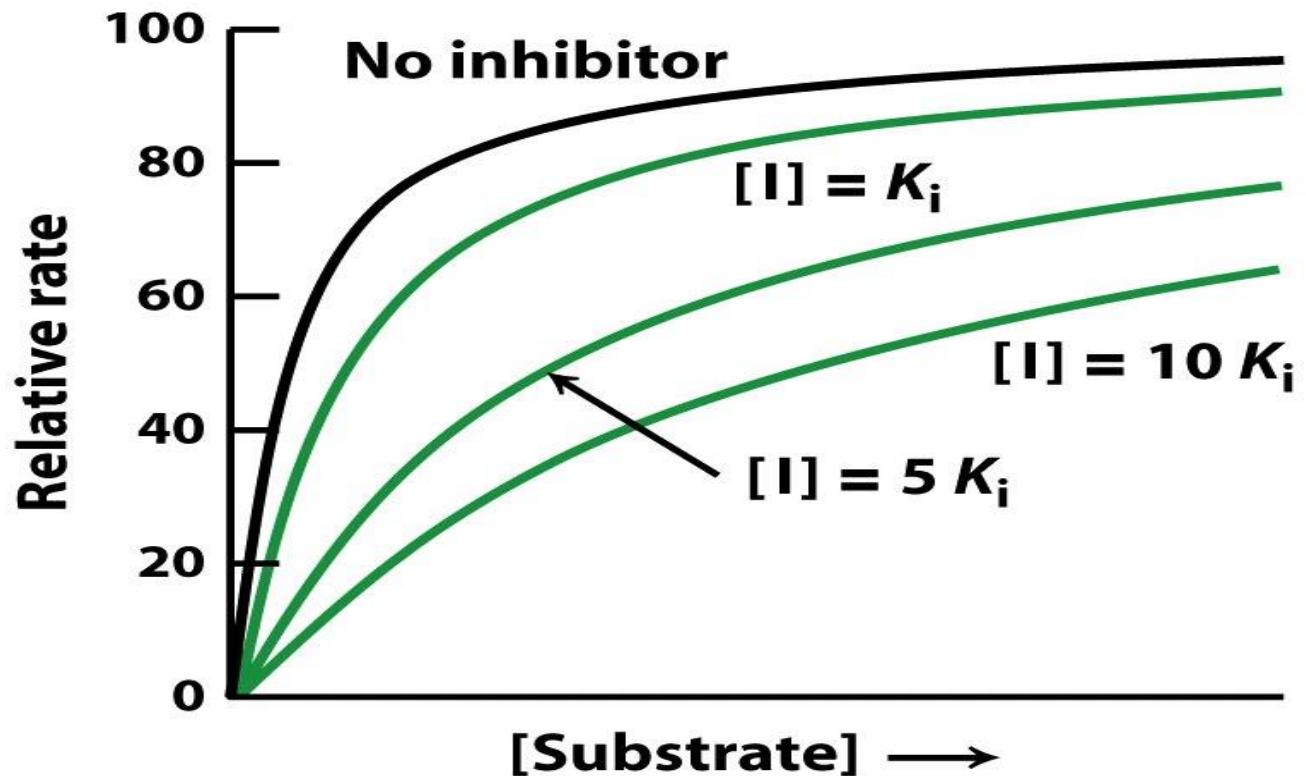
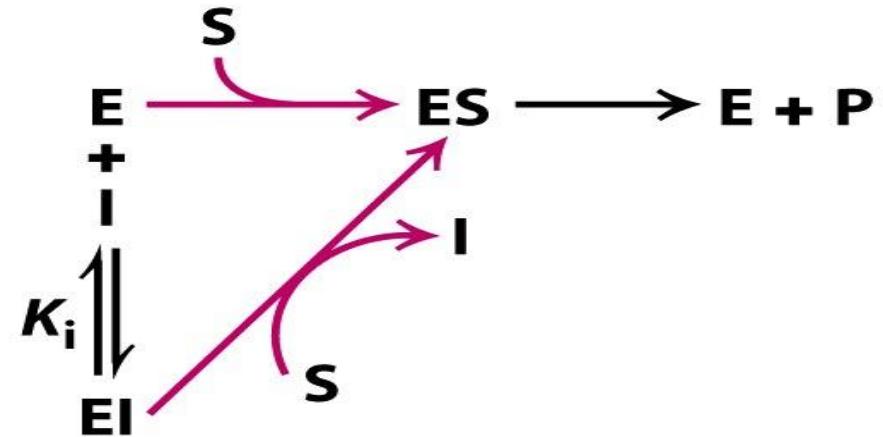
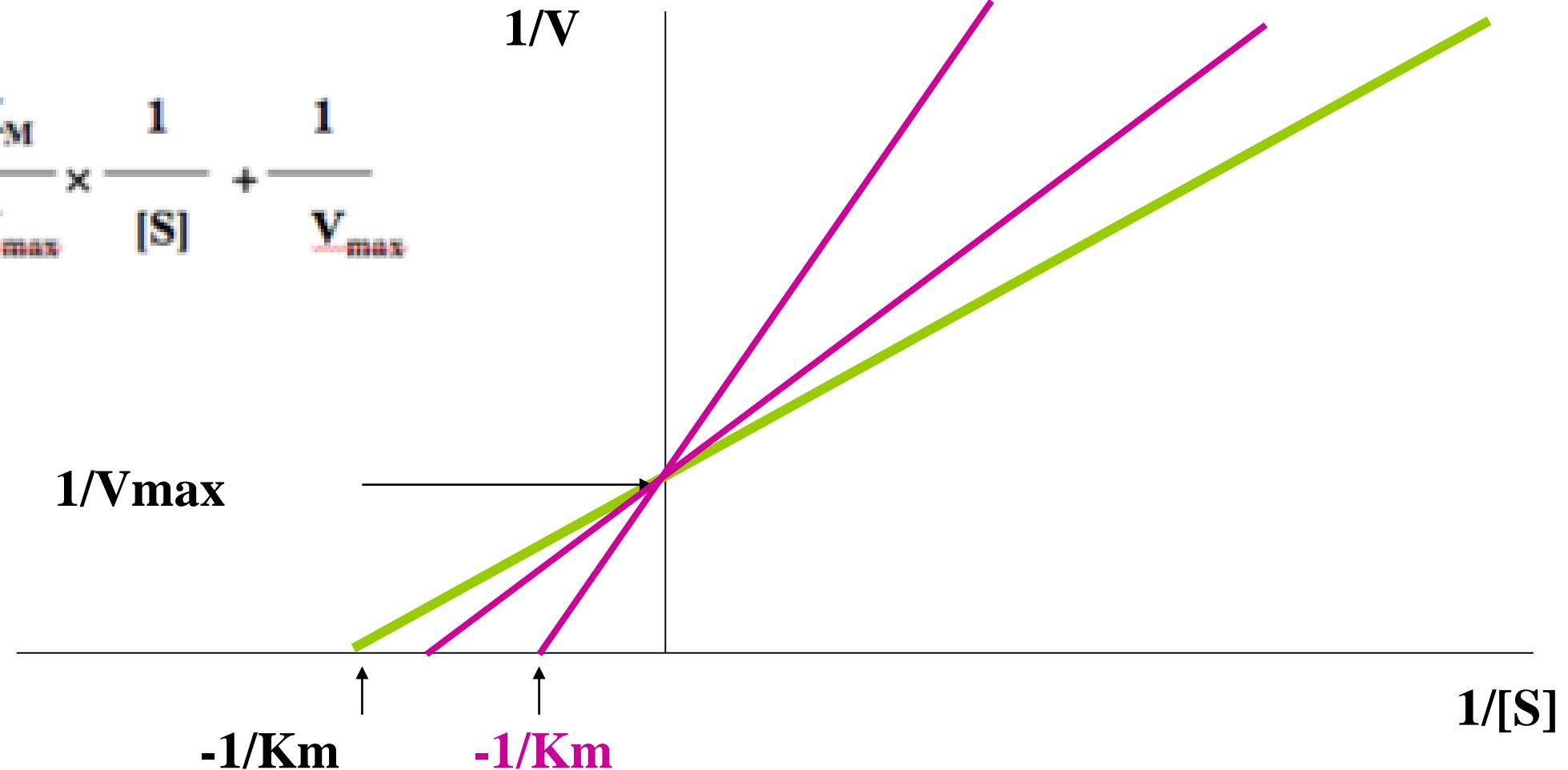


Figure 8-17  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

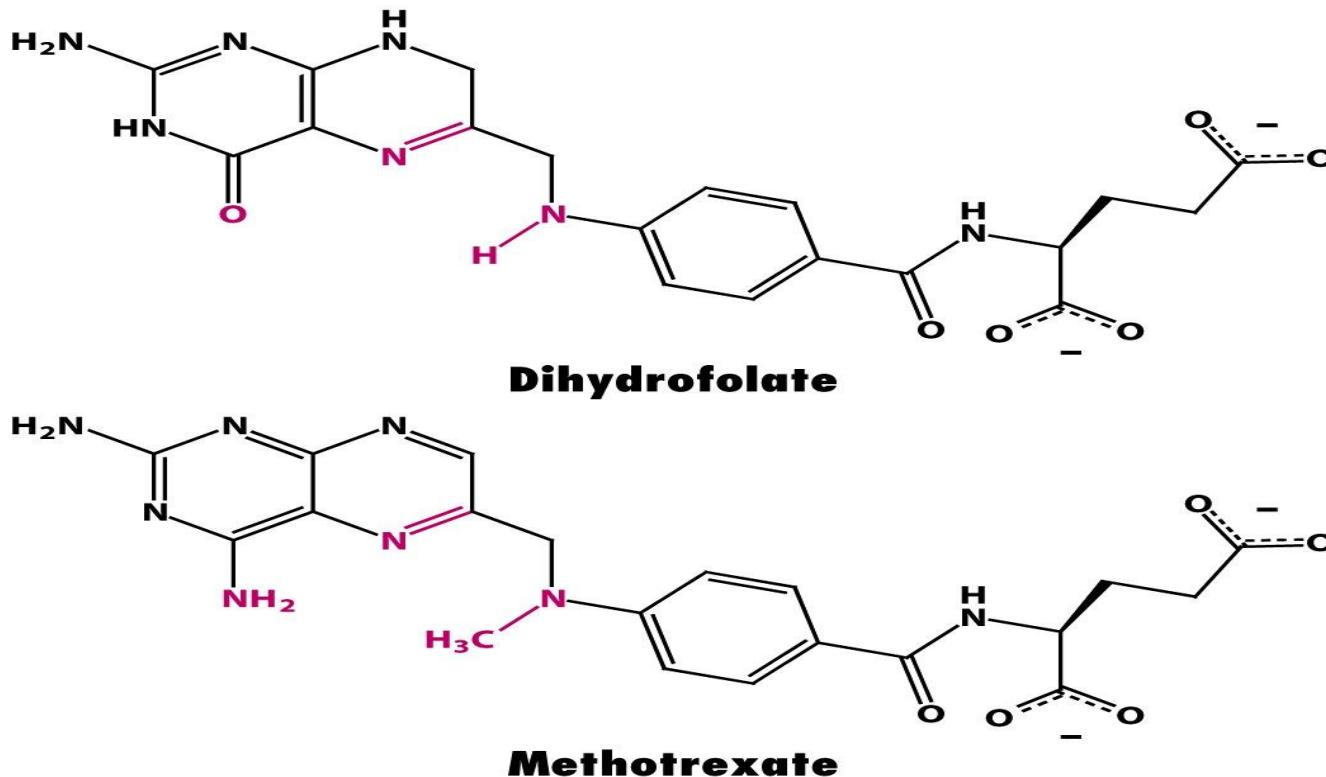
# Représentation graphique en double inverse : inhibiteur compétitif

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



# Inhibition compétitive en thérapeutique

## Dihydrofolate reductase



**Figure 8-16**  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W.H. Freeman and Company

Methotrexate : 1000\* plus de fixation que le DHF sur la DHF reductase  
(métabolisme des purines et pyrimidines) : chimiothérapie

# Inhibition non compétitive

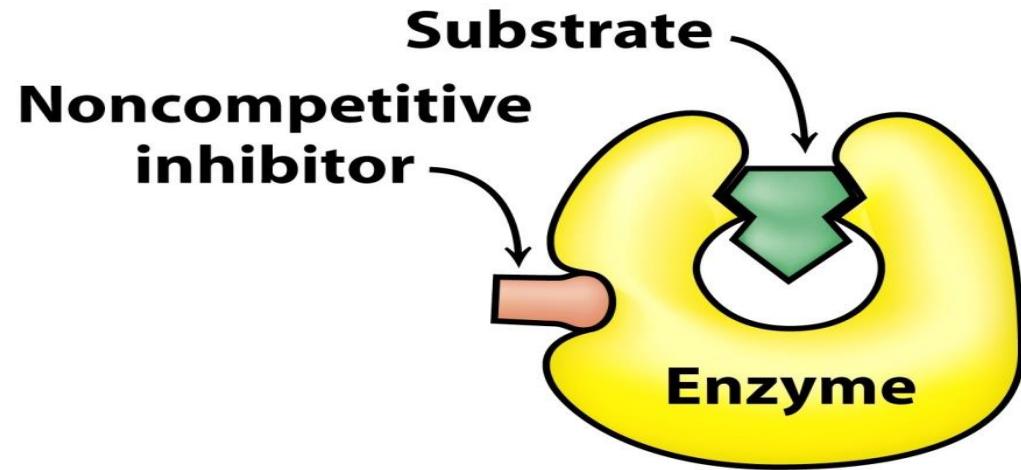


Figure 8-15J  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W.H. Freeman and Company

Comme si on a une baisse de E fonctionnel

Donc baisse de  $V_{max}$  mais  $K_m$  idem

Non levée par augmentation de S

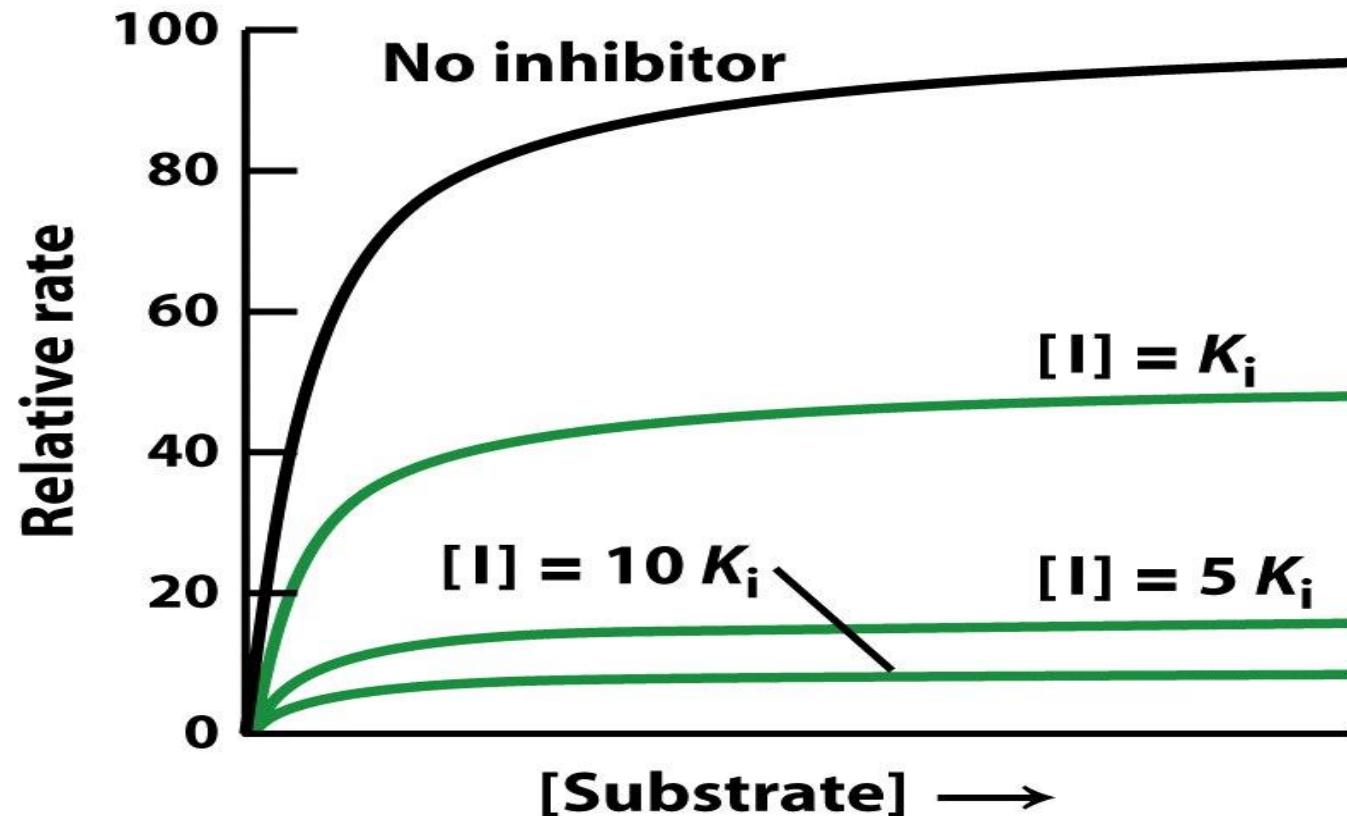
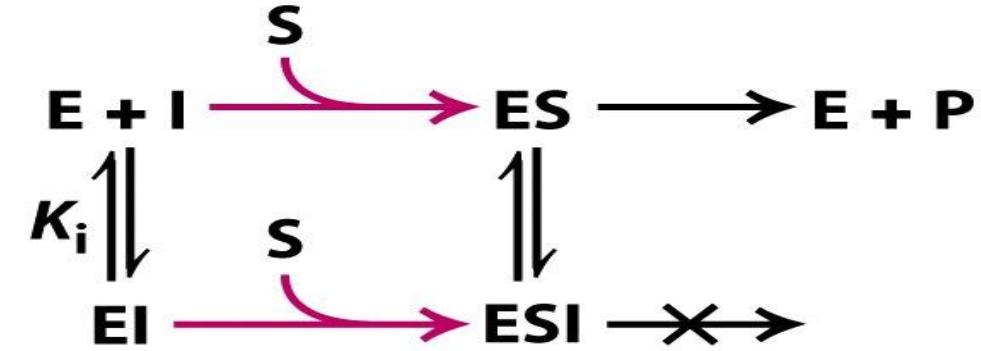
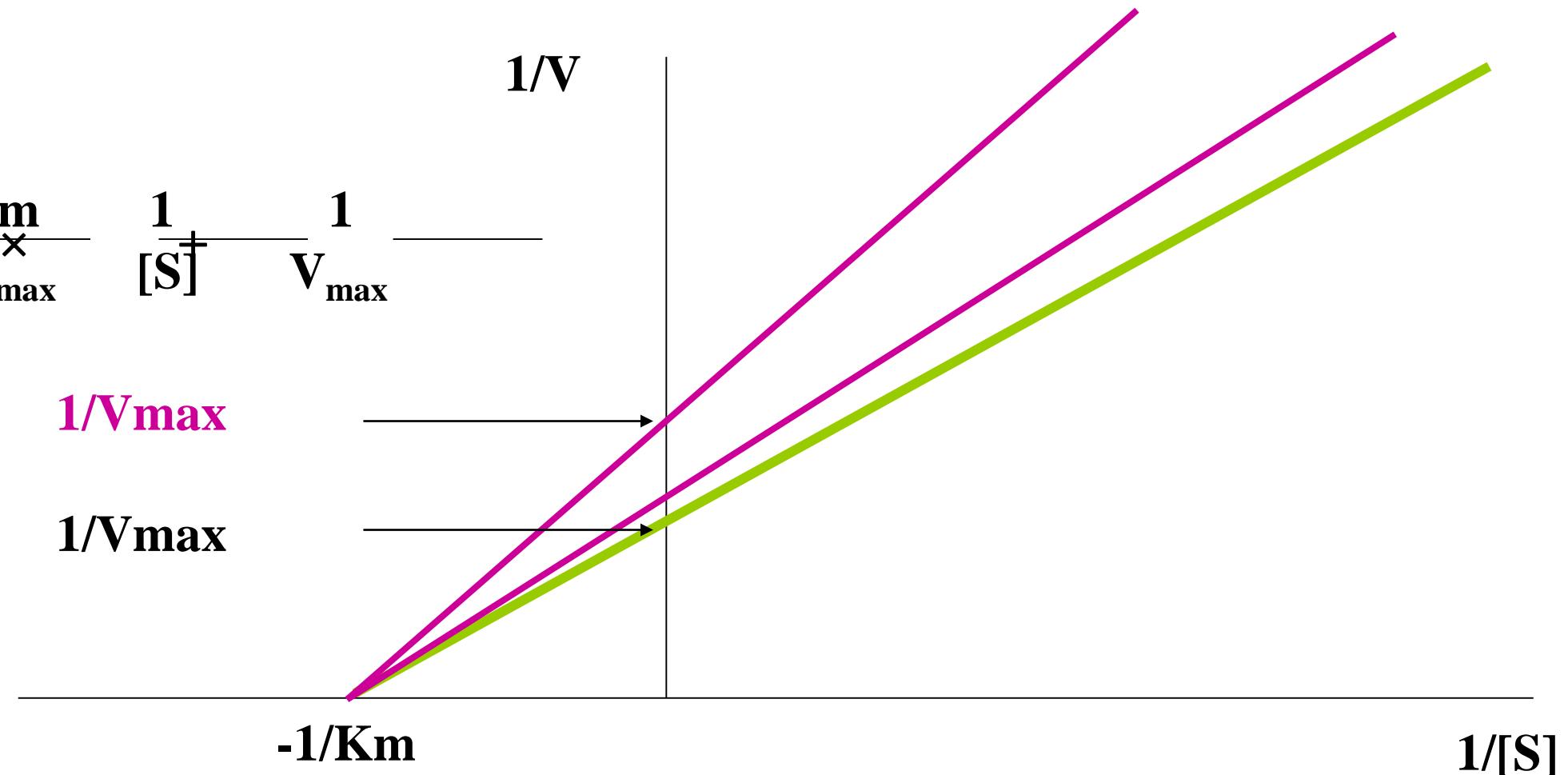


Figure 8-19  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W.H. Freeman and Company

# Représentation graphique en double inverse : inhibiteur non compétitif

$$\frac{1}{V} = \frac{\frac{K_m}{V_{max}}}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

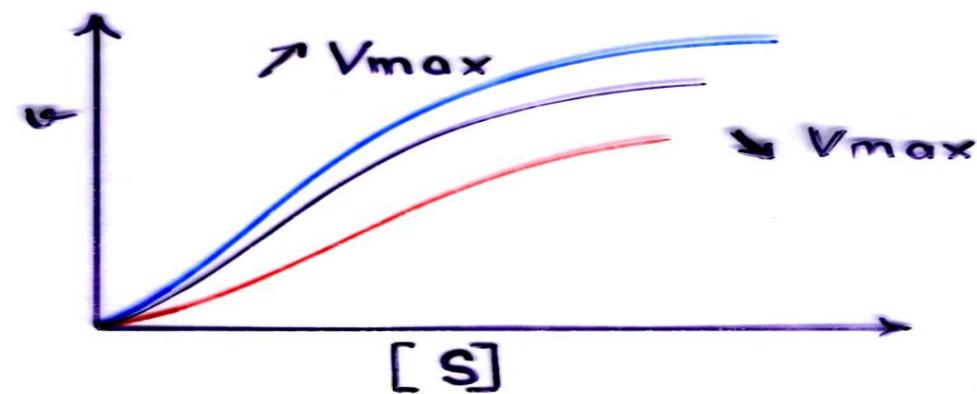
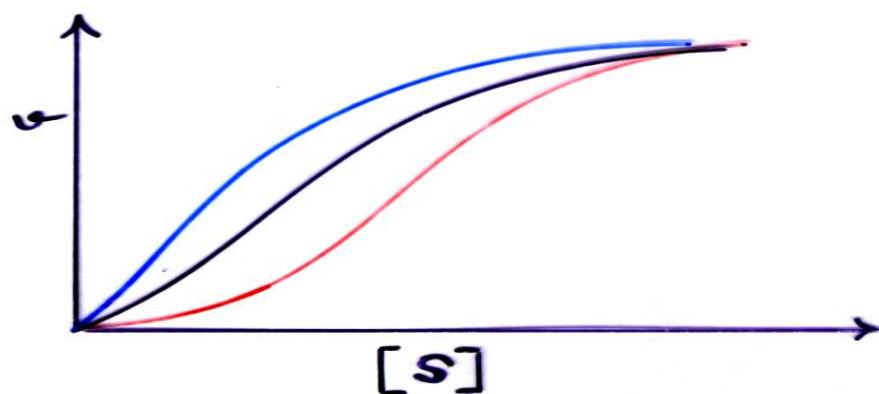


# Régulation allostérique

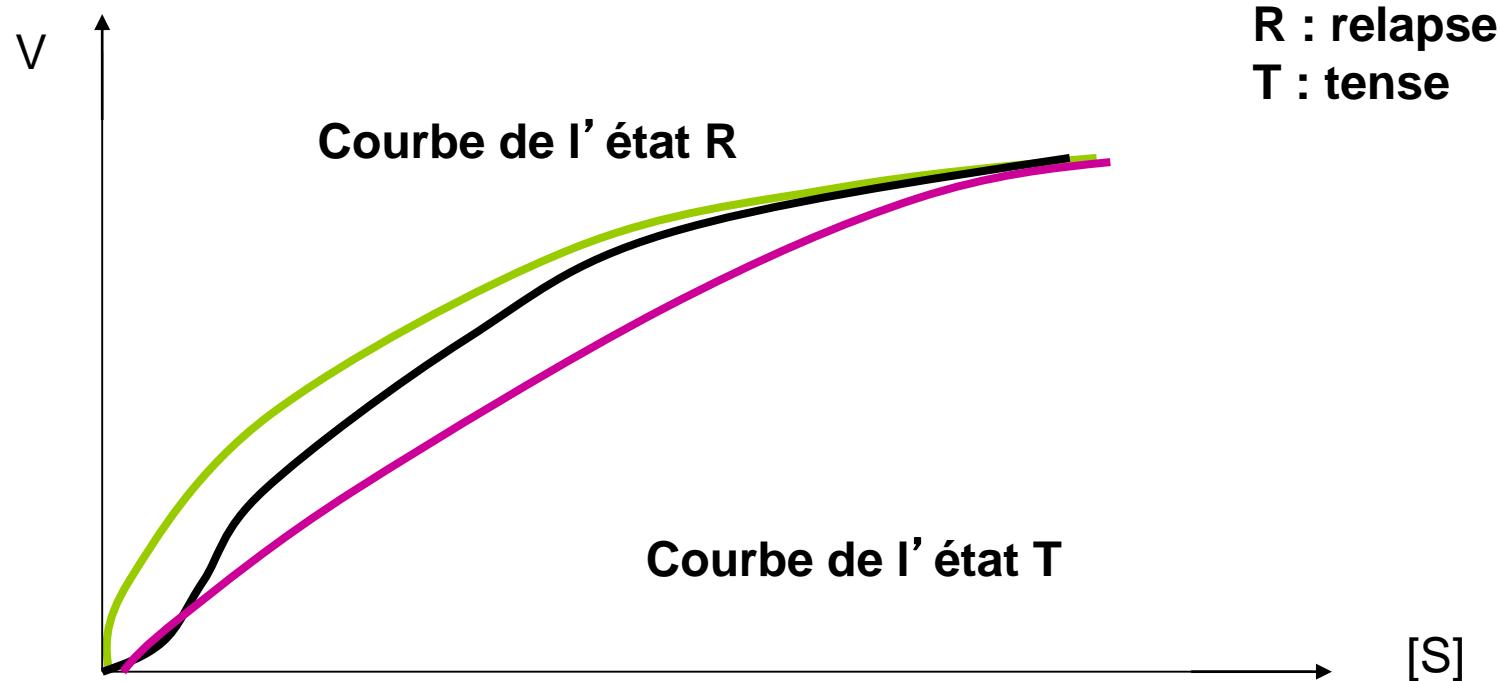
- Comportement cinétique non Michaelien
- Enzyme multimérique (2, 3, 4,.. sous unités)
- Existence sur chaque s.u d'un autre site (allos) que le site actif
- Fixation sur cet autre site d'un ligand allostérique
  - Le ligand est un métabolite qui va signaler à l'enzyme l'état métabolique de la cellule
  - Exemple : ATP, ADP signalent le niveau d'énergie.
  - Pour certaines enzymes le substrat est un ligand allostérique
- Souvent les enzymes des premières étapes de voies catalytiques sont des enzymes allostériques

# Enzymes allostériques

- La fixation du ligand modifie :
  - La conformation de la sous unité sans lui faire totalement perdre son activité : Le  $K_M$  ou le  $V_{max}$  à la hausse ou à la baisse
  - Plus la concentration en ligand est élevée plus le nombre de s.u modifiées augmente
- Exemples de courbe cinétiques
  - (1) **enzyme de type K** : modifie l'interaction enzyme/substrat (au niveau du  $K_M$ ).
  - (2) **enzyme de type V** : modifie le  $V_{Max}$  (au niveau du  $k_{cat}$ )



# Etats « tense » et « relapse »



Enzyme allostérique « type K » = mélange de 2 enzymes type Michaelis-Menten  
État Tense T : forte valeur du  $K_M$   
Etat Relapse R : faible valeur du  $K_M$

La fixation du substrat favorise la transition vers l'état R

La fixation de régulateurs allostériques (ligands) favorise un état plutôt qu'un autre

## Exemple : Régulation des réserves en glucides

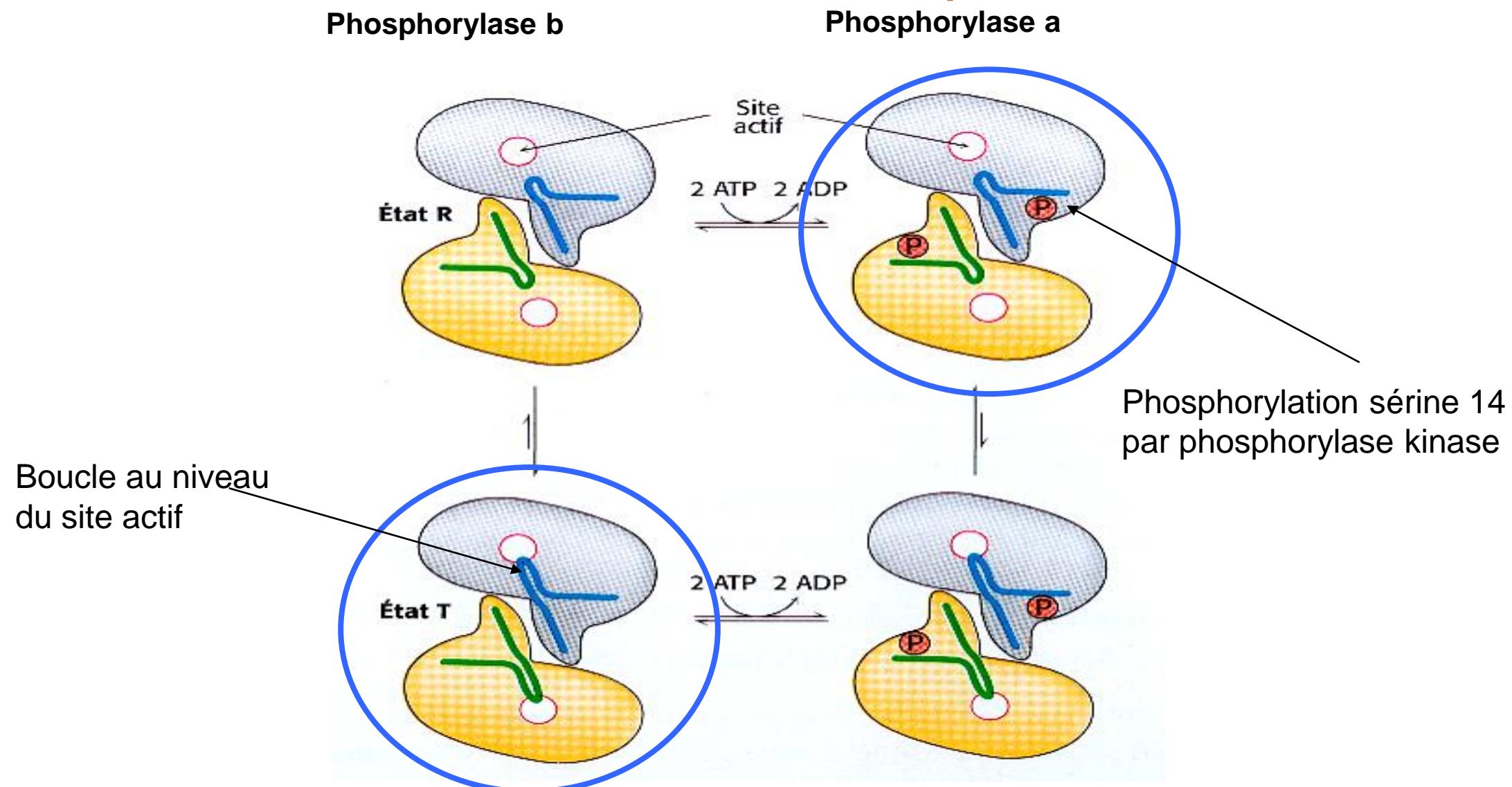
- Le glucose, principale source d'énergie dans la cellule
- Stocké dans différents types de cellules
  - Foie, Muscle
- Stockage sous forme polymérisée : le glycogène (équivalent de l'amidon des féculents)



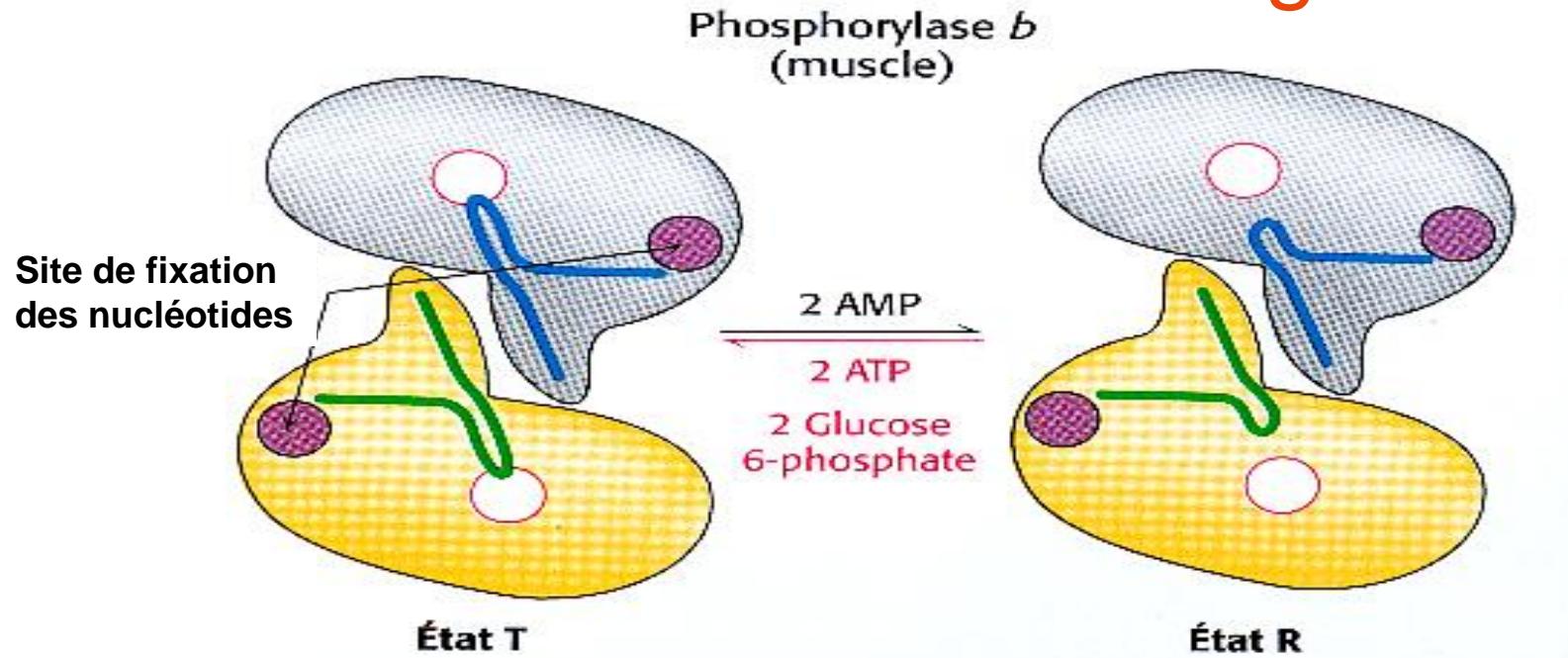
# Régulation de l' activité de la phosphorylase : en fonction des besoins de la cellule, des organes, ou de l' organisme

- Point d' impact de la régulation du métabolisme du glycogène
- Effecteurs allostériques : état énergétique de la cellule
- Mod. Post-traductionnelle : phosphorylation / (Adrenaline,glucagon : état énergétique de l' organisme)
- **Muscle** : utilise l' énergie pour lui-même
- **Foie** : maintient de l' homéostasie du glucose pour l' organisme

# Régulation post-traductionnelle de la phosphorylase : forme a ou b par



# Régulation allostérique de la phosphorylase : sentir les besoins en énergie



**Muscle au repos : majorité de phosphorylase « b » : inactive**

**Début d'exercice : AMP : activation de la forme « b »**

**Prolongation : libération adrenaline : généralisation de la forme « a » pleinement active**

**Excès de glucose 6-phosphate : retour à la forme T**

# Messages essentiels du cours

- L'activité de telle ou telle enzyme permet le choix des voies métaboliques
- La notion d'isoenzymes est importante
- Les différents modes de régulation des enzymes sont à connaître
- Les inhibiteurs compétitifs agissent sur le  $K_M$  et sont souvent utilisés comme médicament
- Les inhibiteurs non compétitifs diminuent le  $k_{cat}$
- L'allostéries est un mode de régulation important du métabolisme
- La glycogène phosphorylase concentre plusieurs modes de régulation

# Mentions légales

---

L'ensemble de ce document relève des législations française et internationale sur le droit d'auteur et la propriété intellectuelle. Tous les droits de reproduction de tout ou partie sont réservés pour les textes ainsi que pour l'ensemble des documents iconographiques, photographiques, vidéos et sonores.

Ce document est interdit à la vente ou à la location. Sa diffusion, duplication, mise à disposition du public (sous quelque forme ou support que ce soit), mise en réseau, partielles ou totales, sont strictement réservées à l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'utilisation de ce document est strictement réservée à l'usage privé des étudiants inscrits à l'Université Grenoble Alpes (UGA), et non destinée à une utilisation collective, gratuite ou payante.