

Allostérie

Allostérie (Réaction $S \rightleftharpoons P$)

Une enzyme est allostérique si la fonction exprimant l'activité en fonction de la concentration de substrat est le rapport de deux polynômes d'ordre supérieur à 1.

$$a = \frac{\alpha_1[S] + \alpha_2[S]^2 + \alpha_3[S]^3 + \dots + \alpha_n[S]^n}{\beta_0 + \beta_1[S] + \beta_2[S]^2 + \beta_3[S]^3 + \dots + \beta_n[S]^n}$$

Remarque : Il n'y a pas de terme constant au numérateur.

Mécanisme :

Une enzyme allostérique a plusieurs sites actifs portés par des sous-unités différentes.

La fixation du substrat sur une sous-unité provoque un changement de conformation d'ensemble.

Les constantes d'affinité **K** et/ou cinétique **k** sont modifiées.

Les sous-unités peuvent être de structures identiques ou différentes.

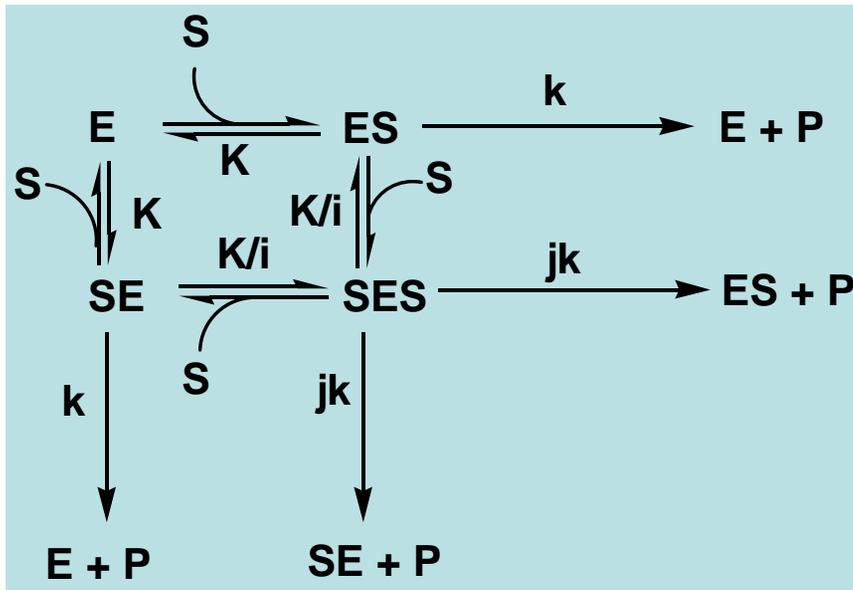
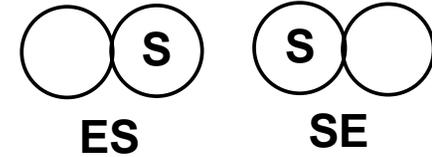
Certaines, régulatrices, peuvent ne pas comporter de site actif.

Le nombre de sous-unités est toujours pair, souvent 4, 6, 8, 12, 2.

Modèle à deux sous-unités identiques

Nous étudierons dans un premier temps ce modèle (simple mais rare) et généraliserons

Convention : Nous représenterons par ES et SE la fixation de S sur l'une ou l'autre des sous-unités



$$a = k([SE] + [ES]) + 2jk[SES]$$

$$[E]_T = [E] + [SE] + [ES] + [SES]$$

$$a = \frac{2k[E]_t[S](K + ij[S])}{K^2 + 2K[S] + i[S]^2}$$

i est défini comme le rapport des constantes de dissociation des complexes ES et SES.

j est le rapport des constantes cinétiques correspondants aux complexes SES et SE.

Sous-unités indépendantes

On dit que les sous-unités sont indépendantes si :

$$i=1 \quad \text{et} \quad j=1$$

$$a = \frac{2k[E]_t[S](K + [S])}{K^2 + 2K[S] + [S]^2} = \frac{2k[E]_t[S](K + [S])}{(K + [S])^2} = \frac{2k[E]_t[S]}{K + [S]}$$

Tout se passe comme si les sous-unités étaient isolées.

L'enzyme est alors michaelienne.

- $K_{0,5}$ est égal à la constante de dissociation du complexe sous-unité substrat.
- k_{cat} est égal à la constante cinétique caractéristique d'une sous-unité multiplié par le nombre de celles-ci.

$$K_{0,5} = K \quad k_{cat} = nk$$

Coopérativité

Il y a coopérativité si i et/ou j sont (est) différent(s) de 1.

(4 types d'allosterie : $K+$, $K-$, $M+$, $M-$)

Coopérativité de type K : correspond à des variations de l'affinité :

$$\begin{array}{l} i \neq 1 \quad j = 1 \quad K+ \quad i > 1 \\ \quad \quad \quad \quad \quad K- \quad i < 1 \end{array}$$

La fixation d'une molécule de S sur une sous-unité augmente ($K+$) ou diminue ($K-$) l'affinité de S pour la deuxième.

Coopérativité de type M : correspond à des variations de la vitesse maximum :

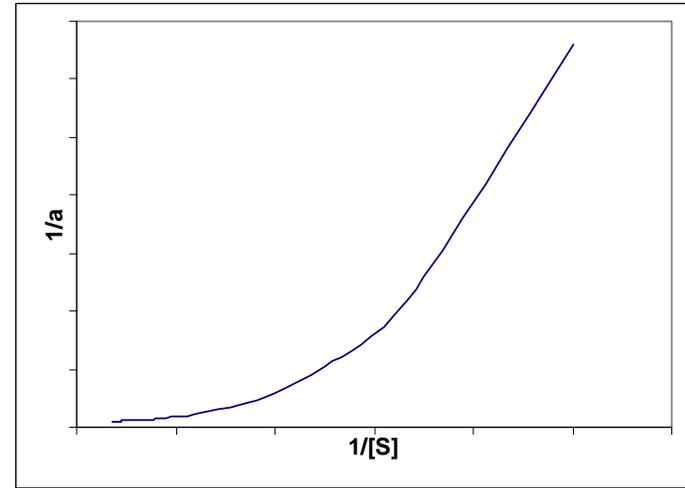
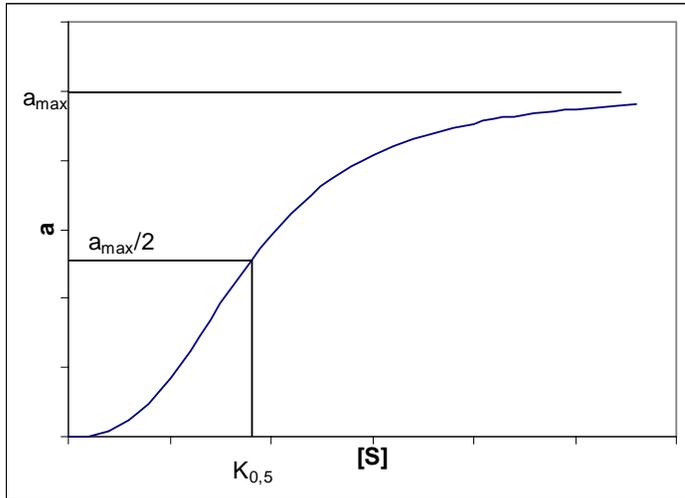
$$\begin{array}{l} i = 1 \quad j \neq 1 \quad M+ \quad j > 1 \\ \quad \quad \quad \quad \quad M- \quad j < 1 \end{array}$$

La fixation d'une molécule de S sur une sous-unité facilite ($M+$) ou rend plus difficile ($M-$) la transformation de S en P par l'autre.

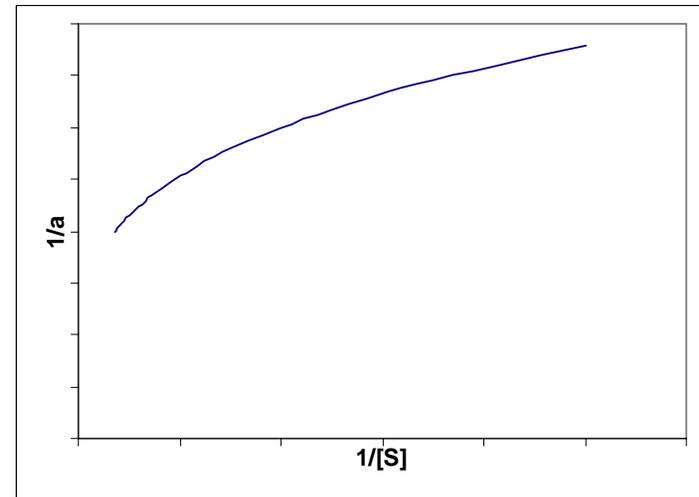
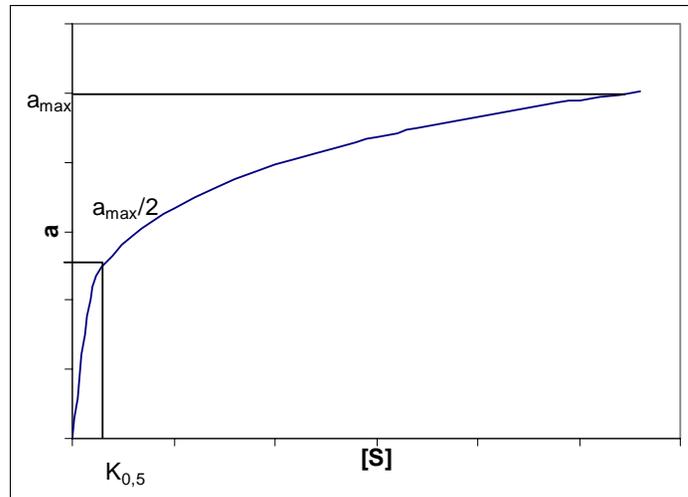
Les 4 types d'allostérie interviennent *in vivo*. Cependant l'allostérie de type K et surtout $K+$ jouent un rôle fondamental dans la régulation.

Coopérativité : courbes $a, [S]$ et $1/a, 1/[S]$

Allostérie K+



Allostérie K-



Allostérie K+ (i>1, j=1)

Cas limites

- Sous-unités indépendantes :

- Elle correspond au cas où $i=1$.
- L'enzyme est alors michaelienne.

- Coopérativité totale

- Elle correspond au cas où i est infini ($K/i = 0$)

- L'affinité de ES ou SE pour S est alors totale :

Si une mole de SE ou ES se forme, elle fixe une deuxième mole de S pour donner SES.

Le modèle se ramène alors à : $E + 2 S \rightleftharpoons ES_2 \rightarrow E + 2P$

Pour n sous-unités : $E + n S \rightleftharpoons ES_n \rightarrow E + nP$

$$a = \frac{a_{\max} [S]^n}{K + [S]^n}$$

Enzymes réelles

- La coopérativité dépend du milieu.

Une enzyme allostérique dans un milieu donné peut être michaelienne dans un autre.

- Il n'y a cependant jamais coopérativité totale.

Nombre de Hill

Considérons la fonction : $x = \log \frac{a}{a_m - a}$

- Sous-unités indépendantes

$$a = \frac{a_{\max} [S]}{K_M + [S]} \quad x = \log \frac{a}{a_m - a} = \log[S] - \log K_M$$

La courbe est alors une droite de pente 1.

- Coopérativité totale

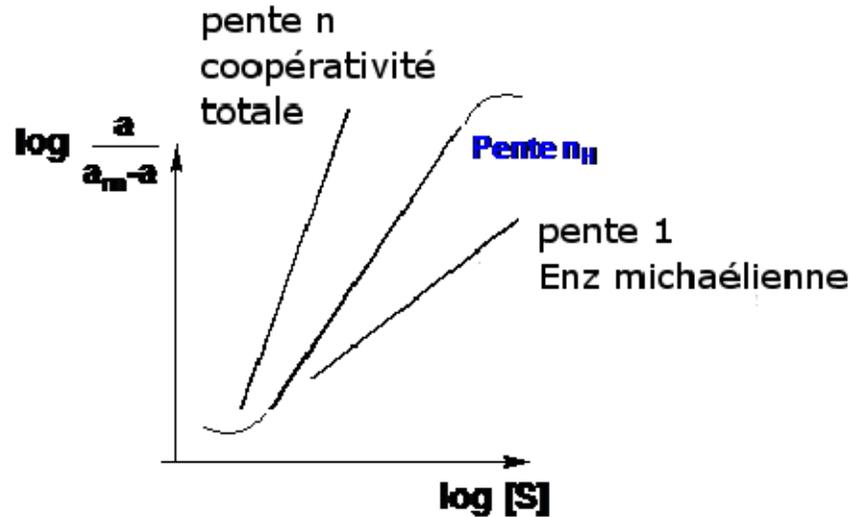
$$a = \frac{a_{\max} [S]^n}{K + [S]^n} \quad x = \log \frac{a}{a_m - a} = n \log[S] - \log K$$

La courbe est alors une droite de pente n égale au nombre de sous-unités.

- coopérativité partielle (cas réel)
 - La courbe x n'est pas une droite. Cependant elle s'assimile à une droite dans un large domaine autour de K . La pente est dite nombre de Hill n_H .

Mesure et utilisation du nombre de Hill n_H

- Mesure de n_H



- Utilisation

Le nombre de Hill caractérise le degré de coopérativité. Il peut être relié à la pente de la courbe $a=f([S])$ autour du $K_{0,5}$. Celle-ci est d'autant plus grande que n_H est grand.

Attention : On ne peut comparer les nombres de Hill que pour une enzyme dans divers milieux ou pour deux enzymes ou isoenzymes constituées du même nombre de sous-unités (car il faut que les valeurs limites soient les mêmes).

NB : Si le nombre de Hill est inférieur à 1,5, l'enzyme est pratiquement michaélienne.

Résumé

Caractérisation d'une enzyme allostérique K+

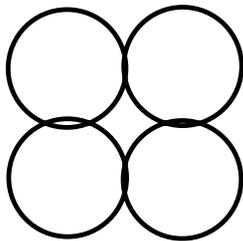
Pour caractériser une enzyme allostérique K+ :

- On trace la courbes $a, [S]$ et la courbe de Hill, $\log(a/a_m - a), \log[S]$
- On détermine a_{\max} , $K_{0,5}$ et n_H

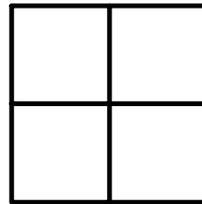
Modèle de Monod, Wyman, Changeux (MWC)

- Les propriétés de la majorité des enzymes allostériques peuvent être interprétées selon le modèle de Monod, Wyman, Changeux.
- Les conformations des sous-unités sont toujours les mêmes.
- L'enzyme libre peut exister sous deux conformations différentes dites tendues (**T**) et relâchées (**R**).

Exemple : 4 sous-unités



Forme T

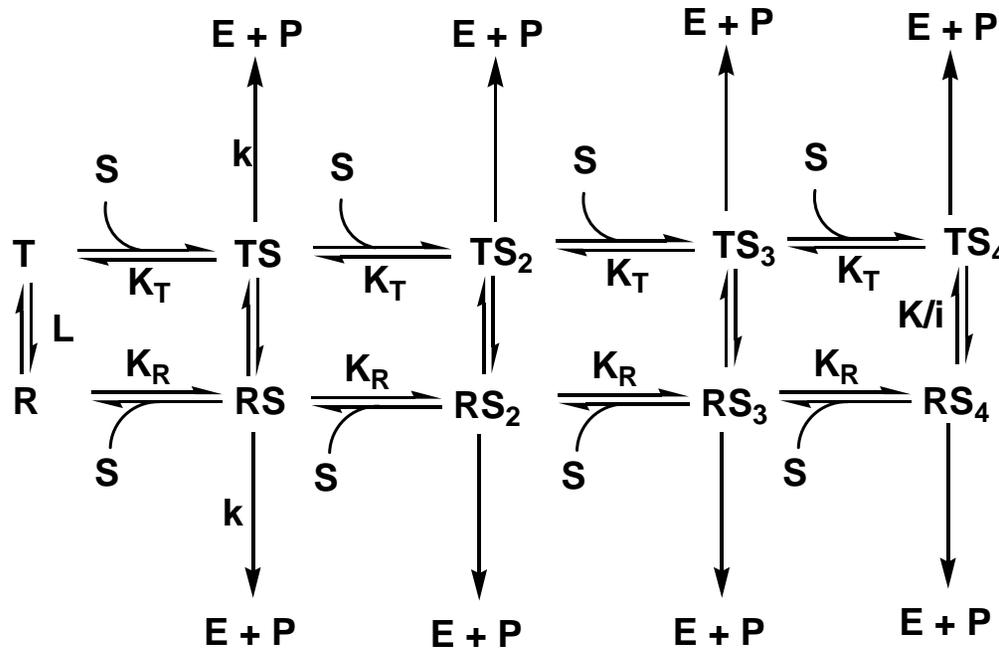


Forme R

Par convention, la forme T est la plus stable :

$$L = \frac{[T]}{[R]} > 1$$

Modèle MWC (suite)

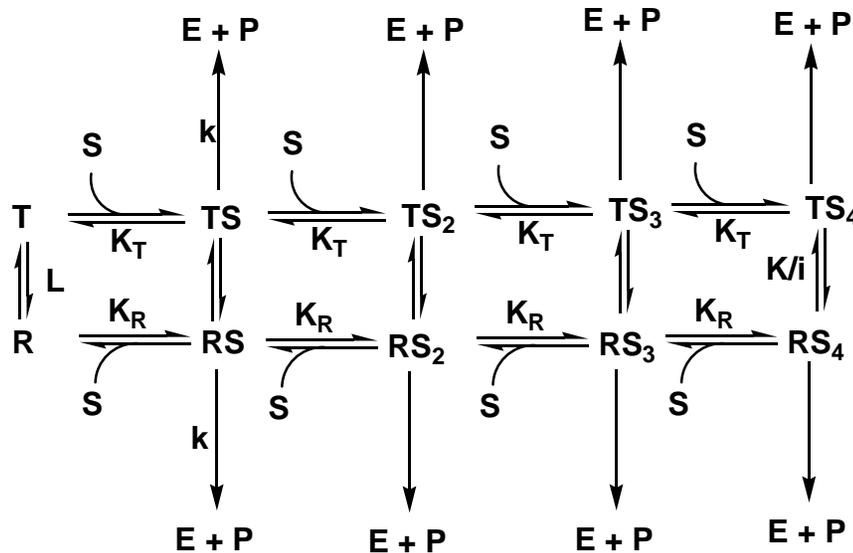


Remarque : le modèle n'est écrit que partiellement. Il existe , par exemple TS et ST

La fixation du substrat sur la forme **T** est caractérisée par K_T , celle de **R** par K_R
 Pour qu'il y ait allostérie **K+**, il faut que **S** ait plus d'affinité pour **R**, forme la moins stable de l'enzyme libre que pour **T** :

$$L > 1 \quad K_R < K_T \quad c = \frac{K_R}{K_T} < 1$$

Modèle MWC (suite)



$$L > 1 \quad c = \frac{K_R}{K_T} < 1$$

- L'enzyme libre est majoritairement sous forme **T**.
- La fixation d'une molécule de substrat la fait basculer vers **R**, ce qui facilite la fixation des molécules suivantes.
- Les formes les plus stables de l'enzyme sont donc **T, RS, RS₂, RS₃, RS₄**.
- L'allostérie sera totale s'il n'existe que ces diverses formes
- Donc si : L est infini et **c** égal à **0**

Modèle MWC : fixation d'un modulateur

Tous les types de modulateurs étudiés précédemment peuvent intervenir (inhibition compétitive, non compétitive ...)

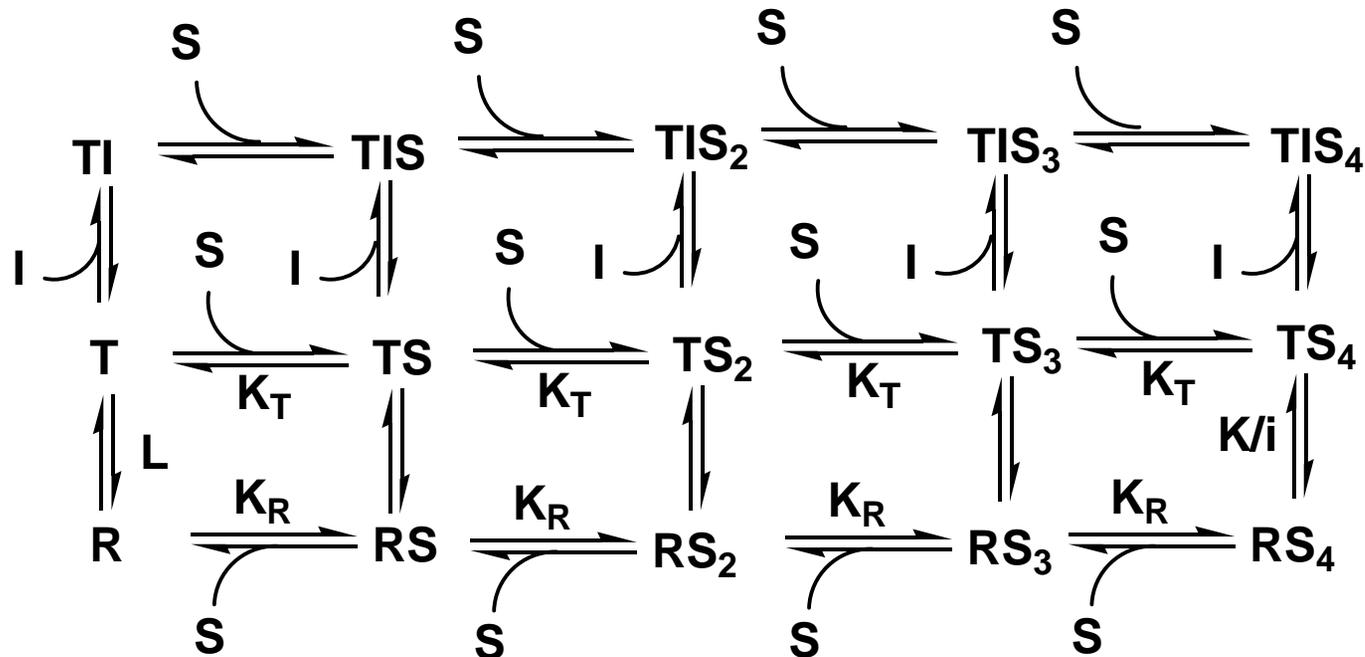
Cas important :

Le modulateur a un site de fixation différent du site actif. Il se fixe préférentiellement sur l'une des deux formes

Fixation d'un modulateur

Modèles limites

Le modulateur ne se fixe que sur la forme **T**



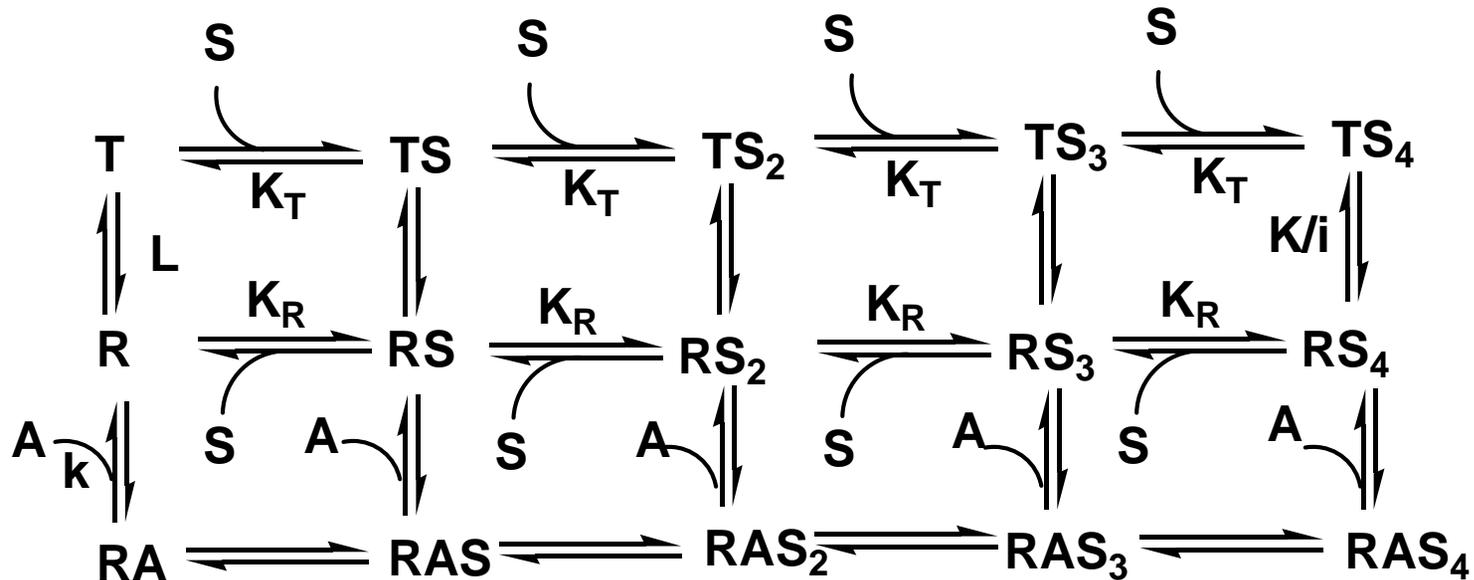
Par souci de lisibilité, les réactions formant le produit ne sont pas écrites

Le modulateur stabilise la forme **T** : c'est un inhibiteur : $K_{0,5}$ augmente.

Fixation d'un modulateur

Modèles limites

Le modulateur ne se fixe que sur la forme **R**



Le modulateur stabilise la forme **R** : c'est un activateur : $K_{0,5}$ diminue.

- **A** la limite, seule la forme **RA** est stable (complexée par **S** ou non).
- L'enzyme devient michaelienne.