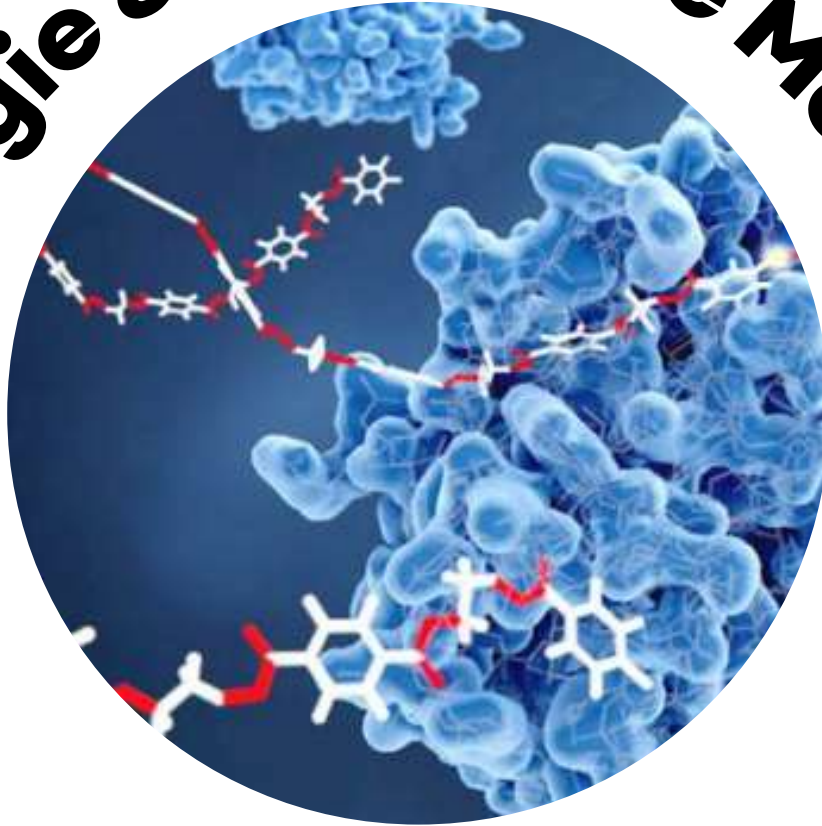


Enzymologie & Biochimie Métabolique



SCIENCES DE LA
VIE



Shop



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



Etudier



Visiter [Biologie Maroc](http://www.biologie-maroc.com) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.

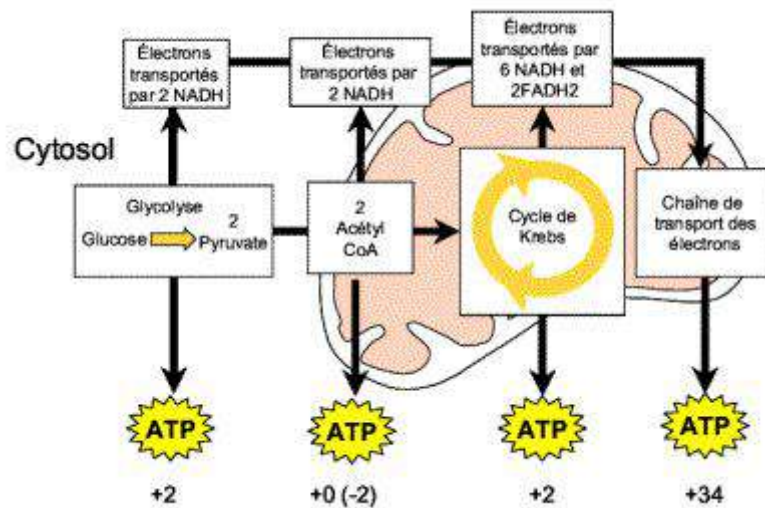


Emploi



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE

Filière Licence Fondamentale SV
 Module : Enzymologie et Biochimie Métabolique
 Première partie Bioénergétique et : Enzymologie



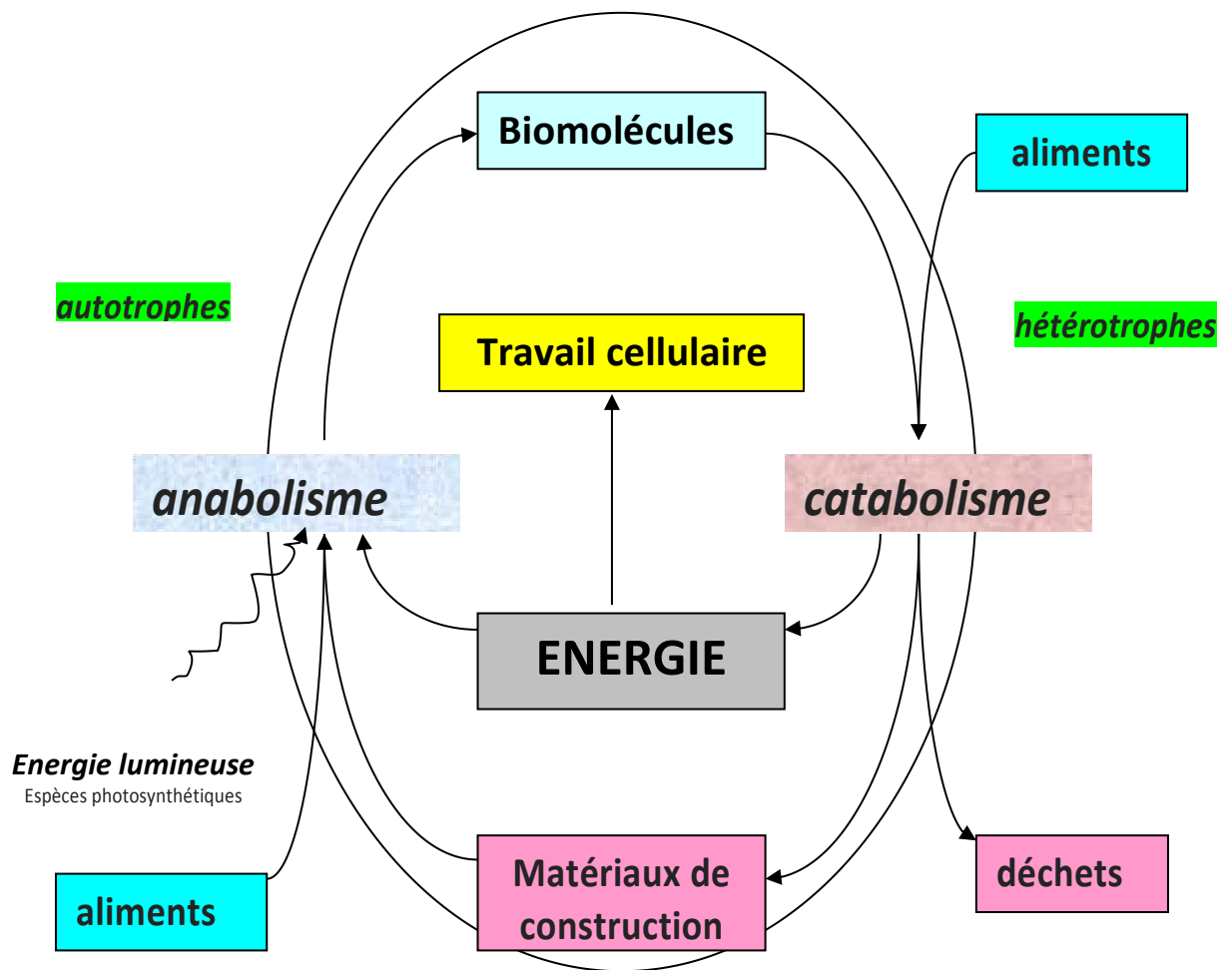
Elaboré par : Pr F. LAZIRI

Année Universitaire : 2019/2020

Partie 1 : Bioénergétique

1 : L'ÉNERGIE EN BIOLOGIE

Toute cellule survit grâce à un échange ininterrompu de matières et d'énergie entre elle-même et le milieu environnant.



- La cellule récupère l'énergie fabriquée par le **catabolisme** (aliments ou biomolécules de réserve)
- elle la renvoie dans les réactions de l'**anabolisme** qui fabriquent les biomolécules nécessaires au bon fonctionnement de la cellule et à sa multiplication.

- L'énergie récupérée par la cellule sert aussi à fournir du travail (transport à travers les membranes, mouvement des structures cellulaires,...)
- Les milliers de réactions enzymatiques qui se déroulent dans une cellule s'appellent les **voies métaboliques**. Elles sont profondément interconnectées. Dans une voie métabolique, le produit d'une réaction est le substrat de la réaction suivante.

Les **hétérotrophes** ont besoin des aliments (composés organiques complexes) qu'ils doivent dégrader pour fournir l'énergie et pour obtenir les molécules de base qui serviront à synthétiser les nouvelles biomolécules.

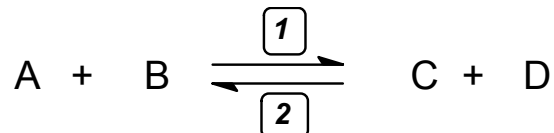
Les **autotrophes** sont capables d'utiliser les composés carbonés simples pour les transformer en biomolécules (composés organiques complexes) soit en utilisant l'énergie produite par l'oxydation des minéraux, soit en utilisant l'énergie solaire (espèces photosynthétiques seulement)

On peut résumer grossièrement que :

- Les **voies cataboliques** transforment les substances en un petit nombre de produits finaux, pour finir par l'oxydation complète des molécules en CO₂ et H₂O.
- Les **voies anaboliques**, au contraire, partent de quelques substances de base qu'elles transforment en de nombreux produits finaux (généralement complexes)

Mais ces réactions sont difficiles à classer dans une voie, en raison des interconnexions. Dans chaque voie les **intermédiaires métaboliques** deviennent les précurseurs d'autres voies (soit cataboliques soit anaboliques) souvent de sens opposés, c'est la régulation de ces voies qui sera importante.

La première de ces régulations sera le sens de la réaction, il sera régi par les principes de la thermodynamique :



2 : THERMODYNAMIQUE CHIMIQUE

L'étude du métabolisme s'appuie sur les principes de la thermodynamique chimique. C'est l'étude des échanges d'énergie qui accompagne les changements d'état et les réactions chimiques (*voir et revoir la thermodynamique chimique module SCB-1*)

2.1 : enthalpie et 1^{er} principe

Le premier principe postule qu'il y a conservation de l'énergie.

$$\Delta H = \Delta E + p\Delta V$$

Où ΔH est la variation d'enthalpie d'un système chimique (c'est la chaleur de réaction à pression constante)

ΔE est la variation d'énergie interne du système

et ΔV la variation de volume

Si $\Delta H < 0$ la réaction est **exothermique** (la chaleur produite par le système est transférée au milieu extérieur)

Si $\Delta H > 0$ la réaction est **endothermique** (le système absorbe une certaine quantité de chaleur)

L'unité est la **calorie** (cal) = quantité de chaleur nécessaire à l'élévation de température de 1°C d'une masse d'eau de 1 g (entre 14,5°C et 15,5°C). On utilise plus souvent la grande calorie (Cal) ou **kilocalorie** (kcal) (quantité de chaleur nécessaire à l'élévation de température de 1°C d'une masse d'eau de 1 Kg.).

L'unité internationale est le **joule** (J). la conversion entre les calories et les joules est: **1 cal = 4,184 j**

$$1000 \text{ j} = 1 \text{ kJ} \quad \text{et} \quad 1 \text{ kcal} = 4,18 \text{ kJ}$$

On utilise encore indifféremment les 2 types d'unités

2.2 : entropie et 2^{ème} principe

Il régit la **spontanéité d'une réaction**. Si une réaction est spontanée, la réaction **inverse** ne se produit **jamais sans intervention extérieure**.

D'où la définition d'une nouvelle fonction **l'entropie** (S) qui caractérise le **désordre** d'un système :

- **S augmente** quand le **désordre augmente**
- **S de l'univers tend à augmenter continuellement**

(l'univers pouvant être constitué du système + le milieu environnant)

L'entropie force les systèmes à évoluer vers leur équilibre.

2.3 : ÉNERGIE LIBRE DE GIBBS

En Biologie, les variations de volume étant quasiment inexistantes, la variation d'enthalpie libre (ΔH) sera voisine de celle de l'énergie libre (ΔE). On l'appellera **ΔG** = variation **d'énergie libre de GIBBS** (du nom du physicien américain)

Si on considère la réaction



ΔG est la variation d'enthalpie libre à pression constante

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

- Si $G_a > G_b$ **$\Delta G < 0$** la réaction est **exergonique** (spontanée sans apport d'énergie extérieure)
- Si $G_a < G_b$ **$\Delta G > 0$** la réaction est **endergonique** (le milieu extérieur devra fournir de l'énergie)

- Température (T° en degré Kelvin = °K)
- Pression
- Concentration (mol.l^{-1})

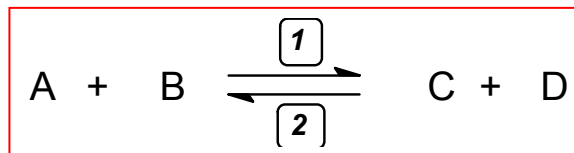
Or ΔG dépend des conditions de la réaction :

On définit donc un état standard de $T^\circ = 298^\circ\text{K}$ (à 25°C , on $273 + 25 = 298$), de pression $p = 1 \text{ atm}$ et de concentration $[c] = 1 \text{ mole.l}^{-1}$ (1 M) c'est $\Delta G^\circ = \text{variation d'énergie libre standard}$

De plus en biologie il est impossible de travailler à des concentrations en $[\text{H}_3\text{O}^+]$ de 1 M (plutôt 10^{-7}M : pH 7), on définit alors une nouvelle référence $\Delta G'^\circ = \text{variation d'énergie libre standard à pH 7}$

2.4 : ΔG RÉELLE DÉPEND DES CONDITIONS DANS LA CELLULE

La première des régulations sera le sens de la réaction équilibrée :



Qui sera régit par les principes de la thermodynamique

Dans la réaction précédente, l'énergie libre de chaque composé en solution est reliée à l'énergie libre standard et elle dépend de la température en $^\circ\text{K}$ ($^\circ\text{K} = T^\circ \text{ en } ^\circ\text{C} + 273$) et de la C^te des gaz ($R \# 2 \text{ cal.}^\circ\text{K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ ou $R \# 8 \text{ j.}^\circ\text{K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) et de la concentration réelle en A dans la cellule. (2.303 est le facteur de conversion $\log_{10} \leftrightarrow \text{Ln}$).

La variation réelle d'énergie libre de la réaction

G'_A = énergie libre réelle de A à pH7, G'_B etc...

G_A° = énergie libre standard de A, etc...

T = température absolue en $^\circ\text{Kelvin}$ ($^\circ\text{K} = \text{température en } ^\circ\text{C} + 273$)

$R = c^\text{te}$ des gaz $\# 2 \text{ cal.}^\circ\text{K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$

$2,303$ = facteur de conversion $\log_{10} \leftrightarrow \text{Ln}$

$[A]$ = concentration réelle de A dans la cellule, etc...

$$G'_A = G_A^\circ + 2,303 R T \log [A]$$

$$G'_B = G_B^\circ + 2,303 R T \log [B]$$

$$G'_C = G_C^\circ + 2,303 R T \log [C]$$

$$G'_D = G_D^\circ + 2,303 R T \log [D]$$

G s'exprime en cal.mol^{-1} ou plutôt en kcal.mol^{-1} (ou en kJ/mol)

La variation réelle d'énergie libre de la réaction sera (ΔG)

égale à la Σ des G des produits – la Σ des G des réactifs

2

$$\Delta G_{\text{réaction}} = (G_C + G_D) - (G_A + G_B)$$

En combinant 1 et 2 on obtient 3

3

$$\Delta G'_{\text{réaction}} = (G_C^{\circ'} + G_D^{\circ'} - G_A^{\circ'} - G_B^{\circ'}) + 2,303 \text{ RT} \log \frac{[C].[D]}{[A].[B]}$$

Ou [A], [B], [C] et [D] sont les **concentrations réelles** dans la cellule

Et **Q** le rapport de ces concentrations réelles, tiré de la loi d'action des masses

4

$$Q = \frac{[C].[D]}{[A].[B]} \quad \Delta G^{\circ'}_{\text{réaction}} = G_C^{\circ'} + G_D^{\circ'} - G_A^{\circ'} - G_B^{\circ'}$$

Et en combinant 3 et 4

5

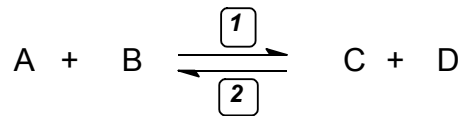
$$\Delta G'_{\text{réaction}} = \Delta G^{\circ'}_{\text{réaction}} + 2,3 \text{ RT} \log Q$$

Le ΔG de la réaction dépend des conditions réelles dans la cellule et donc des concentrations réelles en produits de la réaction (C, D) et en réactifs (A et B). Sa valeur (>0 ou <0) va donc définir le sens de la réaction

ou

2

Quand on est à l'équilibre les vitesses de 1 et 2 s'annulent et on obtient la constante d'équilibre K_{eq}



$$K_{\text{eq}} = \frac{[C].[D]}{[A].[B]} \quad \text{où } [A'], [B'], [C'] \text{ et } [D'] \text{ sont respectivement les concentrations à l'équilibre}$$

Par définition à l'équilibre le rapport des concentrations réelles est tel que : **Q = K_e**

Quand les rapports des concentrations correspondent à l'équilibre les vitesses des sens 1 et 2 s'annulent et

$$\Delta G_{\text{réaction}} = 0$$

5

D'où on tire

$$0 = \Delta G^{\circ'}_{\text{réaction}} + 2,3 \text{ RT} \log K_{\text{eq}}$$

6

Et donc

$$\Delta G^{\circ'} = - 2,3 \text{ RT} \log K_e$$

7

Connaissant $\Delta G^{\circ'}$ (variation d'énergie libre standard de la réaction) on peut ainsi déterminer K_e (sa C^{te} d'équilibre).

Dans les conditions réelles (physiologiques) **le $\Delta G'_r$ ne dépend que des concentrations réelles** (et non à l'équilibre) des produits et des réactifs dans la cellule. Sa valeur et son signe vont permettre de déterminer :

- la spontanéité de la réaction :**

- elle ne sera possible spontanément que si $\Delta G'_r < 0$

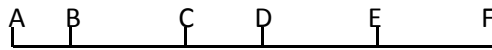
- cela permet de classer les réactions en 2 catégories :

- En effet quand les voies métaboliques fonctionnent, les concentrations des intermédiaires se modifient, mais seulement d'un facteur 2 ou 3. Les enzymes, qui catalysent les réactions au voisinage de l'équilibre, régulent rapidement ces différences de concentration (et donc les flux) en amenant la réaction au voisinage de l'équilibre.

Ce mécanisme est l'un des points de contrôle des voies métaboliques : il représente un véritable « **goulet d'étranglement** » les enzymes étant généralement soumises à un contrôle allostérique (régulation souvent hormonale). On active une enzyme en inhibant celle de la voie inverse (on ferme une voie et on ouvre l'autre, comme avec des vannes). C'est une des **régulations métaboliques**. En résumé :

- ### 3 : LES TRANSFERTS D'ENERGIE EN MILIEU VIVANT





nombreuses réactions intermédiaires qui libèrent chacune de plus faibles quantités d'énergie

(compatibles avec la T°)

Le rendement de ces dernières réactions est beaucoup plus élevé et la récupération d'énergie sera supérieure

- Le rendement d'une réaction décomposée en de nombreuses étapes intermédiaires (libérant chacune moins d'énergie) sera supérieur à celui d'une réaction en une seule étape
- L'énergie fournie par un processus biologique est souvent couplé à un autre processus biologique qui ne pourrait pas se produire sans cette énergie
- Dans les réactions enzymatiques, le couplage dépend de la présence d'un intermédiaire commun
- L'ensemble des 2 réactions couplées constitue une nouvelle réaction dont le $\Delta G'_r < 0$ (sinon elle n'est pas possible)
- L'ATP joue souvent le rôle d'intermédiaire commun

3.1 – LES LIAISONS RICHES EN ENERGIE

Le tableau suivant résume les **énergies libres standard d'hydrolyse (ΔG°)** des principales liaisons ayant un rôle dans le métabolisme

On constate qu'on peut classer ces liaisons en 2 groupes :

- les **liaisons riches en énergie** qui, par hydrolyse, libèrent **plus de 5 kcal/mole** (~21 kJ/mole) entre elles sont liées à un groupement P (sauf la liaison thioester)
- les **liaisons à faible énergie** qui, par hydrolyse, libèrent moins de **5 kcal/mole** (21 kJ/mole). Ce sont principalement les esters (y compris les esters-phosphates)
- la liaison riche en énergie sera symbolisée par le symbole **~**

La réaction inverse de l'hydrolyse : la synthèse, possède le ΔG° de même valeur absolue, mais évidemment de signe opposé (c'est une réaction endergonique de $\Delta G^\circ > 0$). Par exemple la synthèse d'une mole d'ATP à partir d'ADP + P_i nécessitera + 7,3 kcal/mole

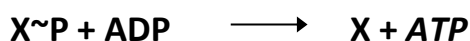
Pour réaliser la réaction inverse il faudra évidemment coupler une réaction exergonique ($\Delta G^\circ < 0$) mais c'est la somme des $\Delta G'$ réels qui doit être < 0 et cela dépendra des concentrations réelles et de la T° (et pas des conditions standard)

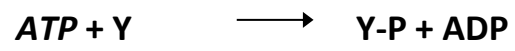
Classification des liaisons en fonction de leur énergie

Type de liaison	métabolite	ΔG° (kcal/mole)	ΔG° (kJ/mole)
Phosphoénol $\text{R}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \sim \text{P} \\ \text{=CH}_2 \end{array}$	Phosphoénolpyruvate	- 14,8	- 62
Acylphosphate $\text{R}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \text{O} \sim \text{P} \end{array}$	1,3-Bisphosphoglycérate Acétylphosphate	- 11,8 - 11,2	- 49 - 47
Guanidine phosphate $\text{R}-\text{NH}-\text{C} \begin{array}{l} \text{NH} \\ \text{NH} \sim \text{P} \end{array}$	Phosphocréatine Phosphoarginine	- 10,3 - 7,7	- 43 - 32
Phosphoanhydride (anhydride d'acide) $-\text{P}-\text{O} \sim \text{P}$	$\text{ATP} \longrightarrow \text{AMP} + \text{P} \sim \text{P}$ $\text{P} \sim \text{P} \longrightarrow 2 \text{P}_i$ $\text{ATP} \longrightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$ $\text{GTP} \longrightarrow \text{GDP} + \text{P}_i$ $\text{ADP} \longrightarrow \text{AMP} + \text{P}_i$	- 7,6 - 8,0 - 7,3 - 7,3 - 7,3	- 32 - 33,5 - 30 - 30 - 30
Thioester $\text{R}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ \sim \text{S}-\text{R} \end{array}$	Acétyl CoA Acyl CoA	- 7,5 - 7,5	- 31 - 31
Phosphoester $\begin{array}{l} \text{R} \\ \text{R} \diagdown \\ \text{R}-\text{C}-\text{O} \sim \text{P} \\ \text{R} \diagup \end{array}$	Glc 1-P Glc 6-P Glycérol 3-P	- 5,0 - 3,3 - 2,2	- 21 - 14 - 9

Ces différents types de liaisons seront revus dans les différentes voies métaboliques en expliquant à chaque fois le rôle éventuel qu'elles jouent dans les mécanismes de régulation.

Les réactions endergoniques ne pouvant se produire que couplées à des réactions exergoniques par l'intermédiaire d'un composé commun aux 2 réactions, ce composé commun sera souvent l'ATP comme nous allons le voir dans le § suivant

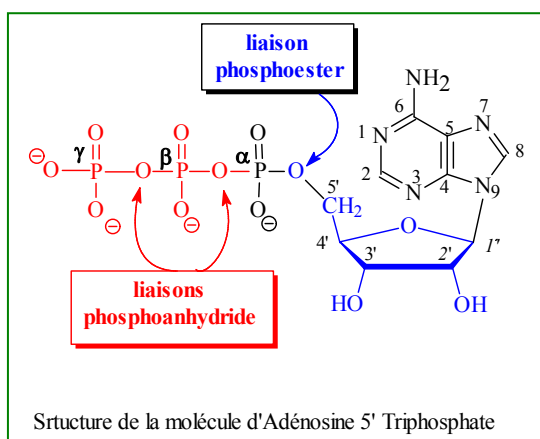




3.2 L'ATP PRINCIPALE SOURCE D'ÉNERGIE POUR LA CELLULE

L'ATP joue un rôle central en bioénergétique : il est fréquent que l'énergie, dégagée par une réaction biologique, soit mise en réserve sous forme d'ATP et utilisée ensuite pour des processus qui absorbent de l'énergie

a – énergie libre standard d'hydrolyse de l'ATP



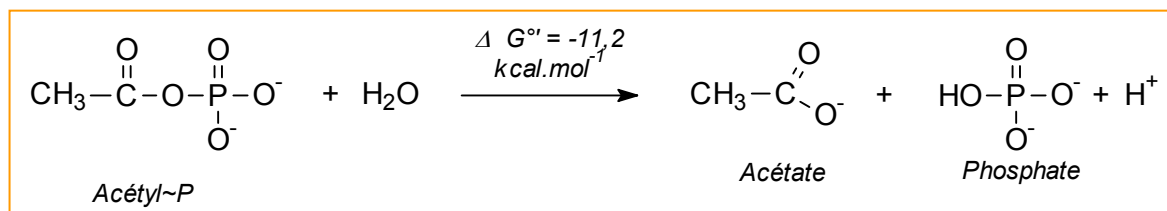
Réactions d'hydrolyse	ΔG° kcal
$\text{ATP}^{4-} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{ADP}^{3-} + \text{P}_i + \text{H}_3\text{O}^+$	- 7,3
$\text{ATP}^{4-} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{AMP}^{2-} + \text{P-P} + 2\text{H}_3\text{O}^+$	- 7,6
$\text{ADP}^{3-} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{AMP}^{2-} + \text{P}_i + \text{H}_3\text{O}^+$	- 7,3
$\text{AMP}^{2-} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{Ado} + \text{P}_i + \text{H}_3\text{O}^+$	- 3,5

In vivo, le rapport de la concentration d'ATP / à ses produits d'hydrolyse est éloigné des valeurs à l'équilibre, de sorte que le ΔG_r , associé à l'hydrolyse de l'ATP, est proche de 14 kcal/mole dans la cellule.

En raison du **grand ΔG** : l'ATP, ainsi que les autres nucléotides (UTP, GTP et CTP) sont qualifiés de **métabolites riches en énergie**. En effet les autres nucléotides (NTP ou NDP) possèdent les mêmes valeurs de variation d'énergie libre standard que l'ATP ou l'ADP.

b – l'hydrolyse de l'ATP est couplée à la synthèse d'autres composés

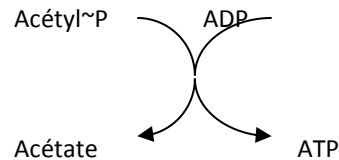
Les **kinases** (ou phospho-tranfèreses) catalysent le transfert du groupement $\gamma - \text{P}$ (γ - phosphate) de l'ATP à un autre substrat



réaction	ΔG° (kcal/mole)
$\text{Acétyl-P} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{P}_i + \text{H}_3\text{O}^+ + \text{Acétate}$	- 11,2
$\text{ADP} + \text{P}_i + \text{H}_3\text{O}^+ \longrightarrow \text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$	+ 7,3
$\text{Acétyl-P} + \text{ADP} \longrightarrow \text{ATP} + \text{Acétate}$	- 3,9

L'énergie libre standard d'hydrolyse de l'acétyl~P (- 11,2 kcal/mole) est supérieure à l'énergie libre standard d'hydrolyse de l'ATP (- 7,3 kcal/mole), c'est pourquoi, même dans les conditions standard, il est possible de coupler l'hydrolyse de l'acétyl-phosphate à la synthèse d'une molécule d'ATP à partir d'ADP.

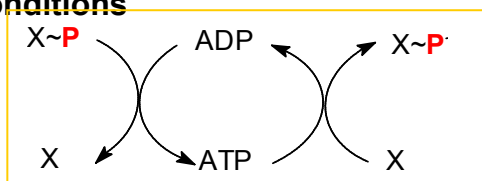
On écrit en général



cette réaction est fortement exergonique

même dans les conditions standard

c – la synthèse/hydrolyse d'ATP est réversible selon les conditions

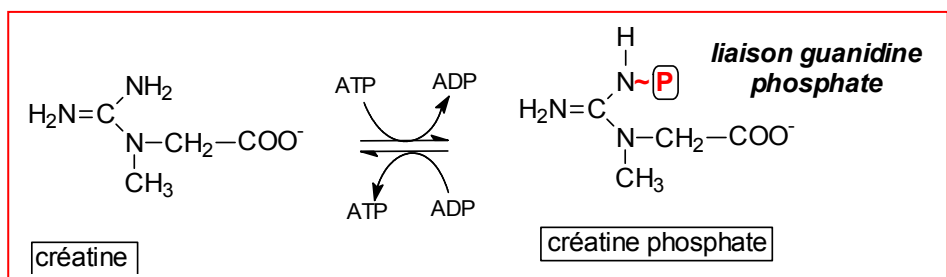


Seule la variation d'énergie libre réelle oriente la réaction dans le sens synthèse ou hydrolyse de l'ATP. Cette variation dépend elle-même des concentrations respectives en produits et en réactifs, donc directement du rapport ADP/ATP et X~P/X

C'est ce qui se passe par exemple dans le muscle lors du début de la contraction musculaire. Celle-ci nécessite de l'ATP, les stocks d'ATP étant très faibles, ils sont épuisés en quelques fractions de seconde. La poursuite de l'effort musculaire nécessite alors une autre source d'ATP, disponible rapidement (en attendant que l'augmentation du métabolisme ne se mette en route). Cette source de dépannage est fournie par l'hydrolyse d'une forme de « réserve » d'énergie : la **créatine-phosphate** (anciennement appelée *phosphagène*) de $\Delta G^{\circ} = - 10,3 \text{ kcal}$, qui permet la synthèse d'une mole d'ATP ($\Delta G^{\circ} = + 7,3 \text{ kcal}$). Dans les conditions standard le solde reste positif $\Sigma \Delta G^{\circ} = - 3 \text{ kcal}$.

A la fin de l'effort il

faudra reconstituer le stock en créatine-phosphate en utilisant l'hydrolyse d'une mole d'ATP.



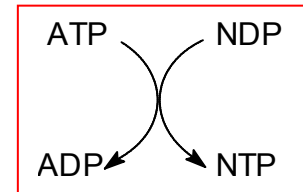
Ces réactions inverses sont possibles dans les conditions réelles si on examine les concentrations réelles :

- quand le stock d'ATP est épuisé le rapport ADP/ATP est très grand et la somme des ΔG sera très largement en faveur de la synthèse de nouvelles moles d'ATP (c'est déjà réalisable dans les conditions standard)

- par contre quand la réserve de créatine-P sera épuisée, le rapport créatine /créatine-P sera très grand et si les stocks d'ATP sont reconstitués (après un repos ou phase de récupération) le rapport ATP/ADP sera redevenu grand. La somme des ΔG réels sera alors en faveur de la synthèse d'une nouvelle mole de créatine-phosphate (*voir les exercices d'application en fin de chapitre*)

De la même manière il sera possible d'utiliser l'énergie d'hydrolyse d'une mole d'ATP pour synthétiser un autre ribonucléotide NTP (GTP ou UTP ou CTP) ou désoxyribonucléotide (dNTP).

Le sens de la réaction, synthèse ou hydrolyse sera lui aussi fonction du rapport relatif ATP/ADP et NDP/NTP qui déterminera le signe de $\Delta G'$.



d – rôle de l'ATP dans l'organisme

Le rôle de l'ATP produit lors des réactions exergoniques va permettre de fournir un certain travail cellulaire :

- **réactions de synthèse des biomolécules** (par exemple synthèse des protéines, des acides gras, des glucides complexes).
- **travail mécanique** (contraction musculaire). La myosine a besoin d'ATP pour se contracter (activité ATPasique). La consommation d'énergie sera fonction de l'intensité de l'effort musculaire
- **transport actif** (travail osmotique qui permettra à des composés de traverser la membrane contre le gradient de concentration).

Par exemple

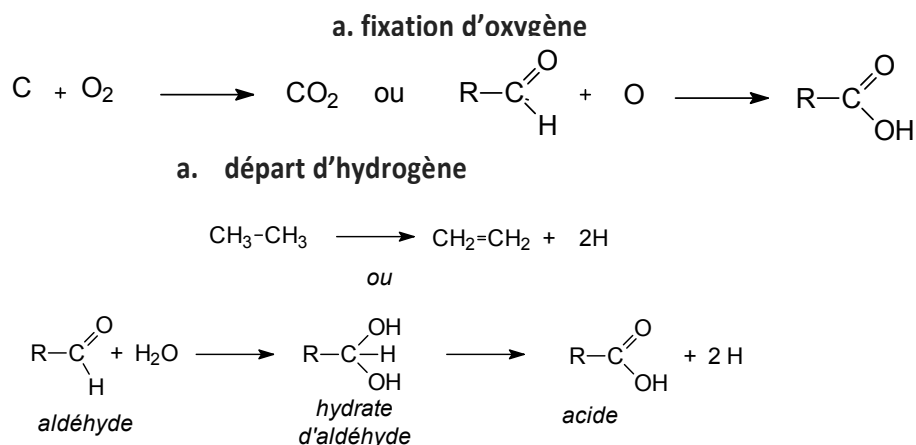
- **travail électrique** : la conduction de l'influx nerveux le long d'une fibre est une onde électrique qui se traduit par un changement de perméabilité aux ions (consomme aussi l'énergie de l'ATP).

$\Delta G^\circ = RT \ln (C_2/C_1)$ ($\Delta G^\circ > 0$ si $C_2 > C_1$)	pour aller de C_1 à C_2 : réaction endergonique à coupler avec hydrolyse de l'ATP
--	---

4. Le potentiel d'oxydo-réduction

Rappels sur les oxydations et les réductions

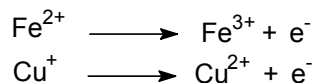
Il existe 3 manières différentes pour oxyder un composé :



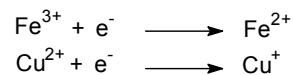
évidement dans les 2 cas précédents il s'agit en fait d'une perte d'électron.

b. perte d'électron

La perte d'électron (e^-) est une oxydation



La réduction est un gain d'électrons

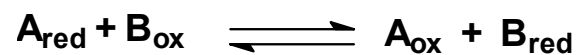
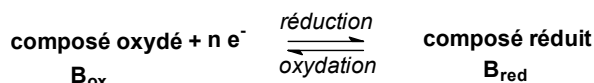
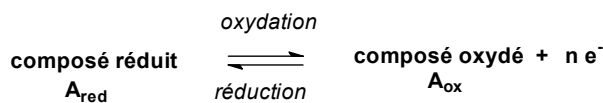


En général on couple 2 réactions dans lesquelles on a :

un **couple donneur d' e^-** ($A_{\text{red}}/A_{\text{ox}}$)

et un **couple accepteur d' e^-**

($B_{\text{ox}}/B_{\text{red}}$)



4. 1 Potentiel d'oxydoréduction standard (redox)

(revoir l'oxydoréduction en chimie physique)

On définit le potentiel d'oxydoréduction de chaque demi-réaction à l'aide d'une pile électrochimique permettant le flux d'électrons d'une solution à l'autre. En l'occurrence on aura une $\frac{1}{2}$ pile constituée par le couple de la $\frac{1}{2}$ réaction étudiée et une autre $\frac{1}{2}$ pile constituée par la solution de référence qui sera le couple $\text{H}_3\text{O}^+/\text{H}_2$ (électrode de référence à Hydrogène) et on définira un potentiel = 0,0 V pour cette référence.

La différence de potentiel entre la $\frac{1}{2}$ réaction étudiée et la référence s'appelle : **le potentiel d'oxydo-réduction E**

Comme pour l'énergie libre on définit des conditions standards :

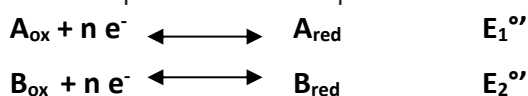
- On utilisera une solution 1M en H_3O^+ pour l'électrode de référence
- La pression de H_2 gazeux sera = 1 atmosphère
- Les concentrations des formes oxydées et réduites de la $\frac{1}{2}$ réaction seront ramenées chacune à 1 mole/l

On obtient alors un potentiel redox standard E°

Comme pour les systèmes biologiques on ramènera les conditions standard à pH 7 (10^{-7} en H_3O^+) on définit un nouveau **potentiel redox standard E'°** .

L'unité de potentiel est le Volt (V).

Pour chaque $\frac{1}{2}$ réaction on peut donc attribuer une valeur de E'° .

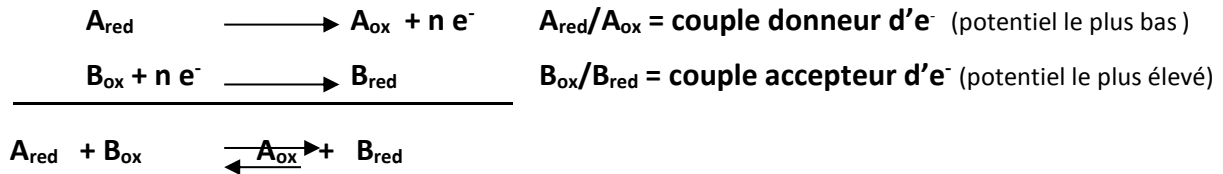


L'une des $\frac{1}{2}$ réactions fournira les e^- et sera le couple donneur et l'autre acceptera les e^- (couple

Les électrons passent spontanément d'un potentiel redox donné à un potentiel redox plus élevé (moins négatif ou plus positif). La variation de potentiel sera $\Delta E^\circ > 0$

quand $E_1^\circ < E_2^\circ$ — $\Delta E^\circ = E_2^\circ - E_1^\circ > 0$

on écrira donc la somme des deux $\frac{1}{2}$ réactions comme suit :



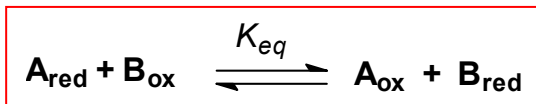
4.2 Potentiel redox et énergie libre

La variation de potentiel redox (ΔE°) pour le transfert des e^- d'un couple à un autre est relié à la variation d'énergie libre (ΔG°) selon la relation suivante :

n = nombre d'électrons échangés

F = constante de Faraday = 23,06 kcal.V⁻¹.mol⁻¹ (ou 96,5 kJ.V⁻¹.mol⁻¹)

La réaction couplée possède une constante d'équilibre K_{eq}



$$K_{\text{eq}} = \frac{[A_{\text{ox}}] \cdot [B_{\text{red}}]}{[A_{\text{red}}] \cdot [B_{\text{ox}}]}$$

On a vu dans le chapitre précédent que

$$\Delta G^\circ = -2,3 RT \log K_e$$

D'où en combinant 1 et 2 on obtient

$$\Delta G^\circ = -2,3 RT \log K_e = -n F \Delta E^\circ$$

donc

$$\Delta E^\circ = 2,3 \frac{RT}{n F} \log K_{\text{eq}}$$

$$T^\circ = 273 + 25 = 298^\circ\text{K}$$

$$R = 1,987 \text{ kcal.mol}^{-1}$$

$$F = 23,06 \text{ kcal.V}^{-1}.\text{mol}^{-1}$$

1

Comme pour l'énergie libre (chap précédent) les concentrations physiologiques ne sont jamais de l'ordre de 1 M, on utilisera donc Q le rapport des concentrations réelles on obtient donc la relation 5 (**équation de Nerst**)

Et aux c

$$\Delta E_r = \Delta E^\circ - 2,3 \frac{RT}{n F} \log Q$$

val
pot

$$\Delta E_r = \Delta E^\circ - \frac{0,059}{n} \log Q$$

rapport des concentrations réelles

Cette nouvelle équation, tirée de l'équation de Nerst, sera utilisée pour calculer la d.d.p. (différence de potentiel) d'un système en dehors de son état d'équilibre, en utilisant les concentrations réelles dans la cellule. Elle permettra ainsi de connaître le sens de la réaction à un moment donné (couple donneur/couple accepteur).

Plus le système redox du couple aura un potentiel faible : plus il sera réducteur

Plus le système redox du couple aura un potentiel élevé : plus il sera oxydant

Le transfert des électrons se fera toujours du réducteur vers l'oxydant

Pour que la réaction soit possible de la gauche vers la droite il faut que le ΔE_r soit > 0 , sinon c'est la réaction inverse qui a lieu.

On donne dans le tableau I le Potentiels standards d'oxydoréduction de quelques couples impliqués dans les réactions métaboliques.

Dans ce tableau, les couples sont classés dans l'ordre du potentiel décroissant représentant l'échelle thermodynamique. Deux couples NADH, H⁺/NAD et NADPH/NADP⁺ dont le potentiel redox est égal à -0.32 occupent une position intermédiaire. Ils sont accepteurs ou donneurs d'électrons dans les réactions biochimiques.

½ réactions d'oxydo-réduction	E°' (V)
$\frac{1}{2} \text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0,82
$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$	0,77
Cyt a ($\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$)	0,29
Cyt c ($\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$)	0,25
Cyt c ₁ ($\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$)	0,22
Ubiquinone ($\text{UQ} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow \text{UQH}_2$)	0,10
Cyt b <i>mitochondrial</i> ($\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$)	0,08
Fumarate + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ Succinate	0,03
Oxaloacétate + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ Malate	- 0,17
Pyruvate + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ Lactate	- 0,18
Acétaldéhyde + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ Ethanol	- 0,20
FMN + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ FMNH ₂	- 0,22
FAD + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ FADH ₂	- 0,22
Glutathion ($\text{GS-SG} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow 2 \text{GSH}$)	- 0,23
Lipoate + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ Dihydrolipoate)	- 0,29
NAD ⁺ + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ NADH + H ⁺	- 0,32
FAD/FADH ₂ (lié à la lipoyldéshydrogénase)	- 034
NADP ⁺ + $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow$ NADPH + H ⁺	- 0,32
$2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2$	- 0,42

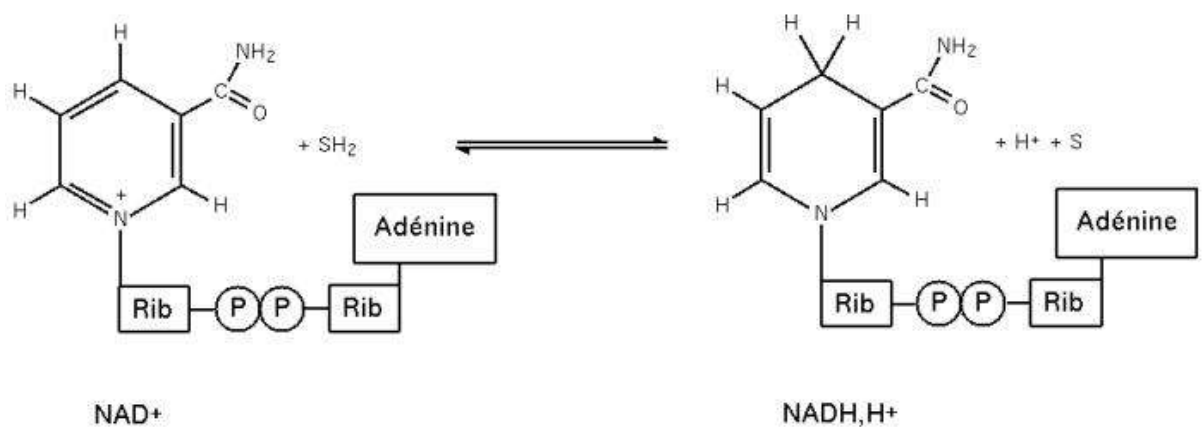
4.3 NADH, H⁺/NAD et FADH₂/FAD : deux couples redox accepteurs des électrons impliqués dans la production de l'ATP.

Les deux couples NADH,H⁺/NAD et FADH₂/FAD sont impliqués dans les réactions d'oxydoréduction du catabolisme ou de dégradation des composés biochimiques. Ils interviennent dans les réactions catalysés par des déshydrogénases. Leur formes réduites est appelée cofacteur réduit riche en énergie car leur électrons alimentent le transport des électron dans la chaine respiratoire à laquelle est couplée la formation d'ATP. L'ensemble du processus de la formation de l'ATP, associé au transport des électrons fournis par NADH,H⁺ ou / et FADH₂ jusqu'à l'oxygène s'appelle la phosphorylation oxydative.

4.4 Structure et mécanisme de la prise en charge des électrons et des protons

- NAD⁺/NADH, H⁺

Le site réactif du coenzyme se situe au niveau du noyau pyridine et les étapes de réactions sont les suivantes :



Le premier électron neutralise la charge positive sur l'azote quaternaire, le second neutralise un proton qu'il transforme en H qui se fixe sur le carbone 4. Il reste un proton qui accompagne la molécule réduite d'où l'écriture NADH + H⁺ ou NADH, H⁺.

Sous forme oxydée, ces coenzymes n'ont qu'une seule bande d'absorption à 260 nm, due au noyau adénine.

-La réduction de NAD⁺ s'accompagne d'une modification caractéristique de son spectre d'absorption avec apparition d'une bande à 340nm. La différence d'absorbance à cette longueur d'onde permet d'évaluer la concentration de NADH + H⁺ produit ou disparu dans une solution. Cette

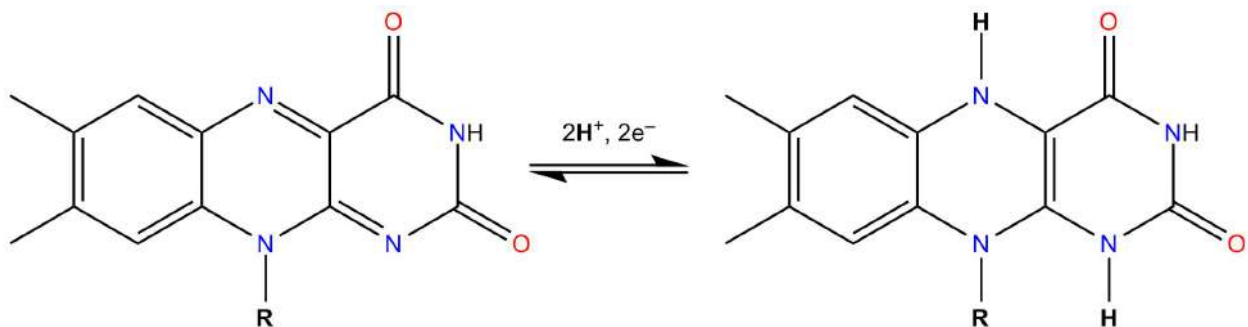
propriété est utilisée pour leur dosage ou pour le dosage des composés dont les réductions ou oxydations leur sont couplées.

- FAD / FADH

La réaction de réduction est la suivante :

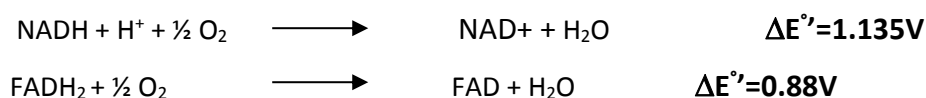


Le noyau isoalloxazine comporte 2 doubles liaisons conjuguées capables de fixer réversiblement deux atomes d'hydrogène. La forme oxydée a une bande d'absorption à 450 nm alors que la forme réduite n'en présente pas. Ce couple redox est un coenzyme groupement prosthétique des déshydrogénases flaviniques encore appelées flavoprotéines. On distingue les flavoprotéines membranaires, non auto oxydables et les flavoprotéines cytosoliques auto-oxydables qui peuvent transférer les électrons et les protons directement à l'oxygène (Voir planche).



4.5- ΔG° du transfert des électrons jusqu'à l'oxygène

Les électrons de NADH + H⁺ ou FADH₂ sont transportés à travers la chaîne respiratoire jusqu'à l'oxygène. La circulation des électrons entre les couples NADH + H⁺ / NAD⁺ ou FADH₂ / FAD et le couple ½ O₂ entraîne une variation de potentiel et par conséquent une variation d'énergie libre. Cette énergie est la source principale de la synthèse de l'ATP en aérobiose dans la cellule. Les réactions rédox mises en jeu sont les suivantes :



Les ΔG° respectives pour NADH + H⁺ et FADH₂ sont -219 KJ/mol (ou -52,4 kcal/mol) et -170 KJ/mol (ou -40,7 kcal/mol).

Les énergies libres fournies par l'oxydation de ces composés réduits, permettent à la cellule de fabriquer par le processus de la phosphorylation oxydative à partir de :

NADH, H⁺ 3ATP

FADH₂ 2ATP

Nous désignerons désormais NADH, H et FADH₂ sous le nom de cofacteurs réduits riches ou énergie.

Partie 2 : Notions Élémentaires d'Enzymologie

1. Définitions

1.1 Enzyme

Une enzyme est une protéine présentant des propriétés de catalyse spécifiques d'une réaction chimique du métabolisme de l'être vivant qui la produit.

- L'Enzymologie est l'étude des enzymes.
- Le substantif « enzyme » est du genre féminin.
- Toutes les enzymes sont des protéines.
- Les protéines enzymatiques sont des catalyseurs, c'est-à-dire qu'en agissant à des concentrations très petites, elles augmentent la vitesse des réactions chimiques, sans en modifier le résultat. A la fin de la réaction la structure de l'enzyme se retrouve inchangée.
- Une enzyme donnée est spécifique d'une réaction, c'est-à-dire qu'elle catalyse toujours la même transformation, se produisant sur les mêmes corps chimiques initiaux.
- Les protéines enzymatiques sont synthétisées par des êtres vivants. Cette synthèse est déterminée génétiquement : sa conservation dans le génome est favorisée par le besoin qu'éprouve cet être vivant de faire cette réaction.

1.2 Substrat

Un substrat est toute molécule qui entre dans une réaction chimique pour y être transformée grâce à l'action catalytique d'une enzyme.

1.3 Produit

Un produit : c'est toute molécule qui apparaît au cours d'une réaction catalysée par une enzyme

2. Réaction enzymatique

Lorsque le sens d'une réaction enzymatique réversible est changé le produit devient substrat et vice-versa.

2.1 Facteurs indispensables

Certaines réactions enzymatiques se produisent simplement entre un substrat et l'enzyme, aboutissant à un produit. D'autres fois, un troisième corps chimique est indispensable, il est appelé cofacteur.

2.1.1 Cofacteurs

- Les cofacteurs sont des atomes ou des molécules qui interviennent dans la réaction enzymatique, mais ne sont pas transformés définitivement à la fin de cette réaction : ils interviennent pour transporter le substrat, pour recevoir le produit ou comme participant à la structure de l'enzyme.
- La protéine enzymatique reconnaît spécifiquement les cofacteurs dont elle a besoin.
- La réaction enzymatique nécessite aussi que le complexe enzyme-substrat échange de l'énergie libre avec le milieu environnant.
- Certains cofacteurs sont des molécules plus complexes synthétisées par les cellules : ils sont appelés, coenzymes.

2.1.2 Coenzyme

Les coenzymes sont des molécules biologiques c'est à dire que leur synthèse naturelle ne peut être faite que par des cellules vivantes. Lorsque cette synthèse n'est pas inscrite dans le patrimoine génétique d'une espèce, alors tout ou partie de la molécule du coenzyme doit être apporté à cette espèce par son alimentation : cet aliment indispensable s'appelle une vitamine.

Les coenzymes sont des cofacteurs donc des molécules indispensables à la catalyse enzymatique.

- Lorsque les coenzymes sont liés à l'enzyme par des liaisons de type électrostatique ou plus faiblement encore, cette liaison est renouvelée à chaque réaction effectuée : en effet, l'énergie mise en jeu par la liaison enzyme-coenzyme est du même ordre de grandeur que l'énergie mise en jeu dans la liaison enzyme-substrat ; dans ce cas, la concentration des coenzymes doit être du même ordre de grandeur que celle du substrat (on dit stoechiométrique). Ces coenzymes sont appelés coenzymes libres parce qu'ils se dissocient de l'enzyme à chaque réaction catalysée.
- Lorsque au contraire les coenzymes sont liés aux enzymes par des liaisons fortes de type covalente leur concentration est nécessairement la même que celle de l'enzyme, c'est-à-dire très petite (on dit catalytique).

Ces coenzymes sont appelés coenzymes liés parce qu'ils ne se dissocient pas de l'enzyme.

3. Classification des enzymes

Malgré leur grande diversité, les réactions biochimiques peuvent être regroupées en six classes distinctes (Tableau 1). Chacune de ces classes est subdivisée, et chaque enzyme reçoit un numéro d'ordre à l'intérieur de la subdivision. Le nom systématique d'une enzyme tient compte de son classement dans la nomenclature (voir tableau I).

La nomenclature des réactions enzymatiques est exprimée par un ensemble de quatre nombres séparés par des points. Le premier de ces nombres désigne le type de la réaction catalysée, parmi les six grandes classes de réactions enzymatiques. Le deuxième et le troisième expriment la nature des corps chimiques sur lesquels cette réaction se produit. Le quatrième nombre est un numéro d'ordre.

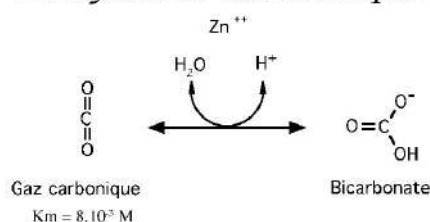
Classe	Type de réaction	Exemple
1.Oxydoréductases	Transfert d'électron	Alcool déshydrogénase (EC 1.1.1.1)
2.Transférases	Transfert de groupes fonctionnels	Hexokinase (EC 2.7.1.1)
3.Hydrolases	Hydrolyse	Invertase (EC 3.2.1.26)
4.Lyases	Coupage d'une liaison covalente par d'autres moyens que l'hydrolyse ou l'oxydation	Histidine décarboxylase (EC 4.1.1.22)
5.Isomérases	Transposition intramoléculaire	Triose phosphate isomérase (EC 5.3.1.1)
6.Ligases ou synthétases	Formation de liaison covalente couplée à une dépense d'énergie (ATP)	Glutamine synthétase (EC 6.3.1.2)

Exemple d'enzyme : l'anhydrase carbonique (4.2.1.1)

29000
Isoenzymes

4.2.1.1

Anhydrase carbonique



L'anhydrase carbonique catalyse la réaction 4.2.1.1, ce qui signifie qu'elle agit sur une réaction d'addition au niveau d'une liaison double (premier nombre 4), que la réaction crée une liaison entre des atomes de carbone et d'oxygène (deuxième nombre 2), que le corps

ajouté est une molécule d'eau (troisième nombre 1) et qu'elle est la première de cette espèce (quatrième nombre 1). Une réaction réversible est classée sous un seul numéro quel que soit son sens.

L'anhydrase carbonique est une enzyme présente dans toutes nos cellules. C'est une protéine d'une masse de 29000 daltons, constituée d'une chaîne de 264 acides aminés. La présence d'un atome de Zinc est nécessaire à son activité.

- Elle catalyse la réaction d'addition d'une molécule d'eau sur une molécule de gaz carbonique pour donner l'acide carbonique qui se dissocie au pH physiologique en un ion bicarbonate et un proton. Cette réaction est réversible et aboutit à un état d'équilibre que la catalyse enzymatique ne change pas.

- Sur cette image et de droite à gauche le bicarbonate, réassocié à un proton, va perdre avec l'aide catalytique de l'enzyme, une molécule d'eau pour donner l'anhydride ou gaz carbonique. Dans ce sens, on appelle substrat le bicarbonate et produit le gaz carbonique.

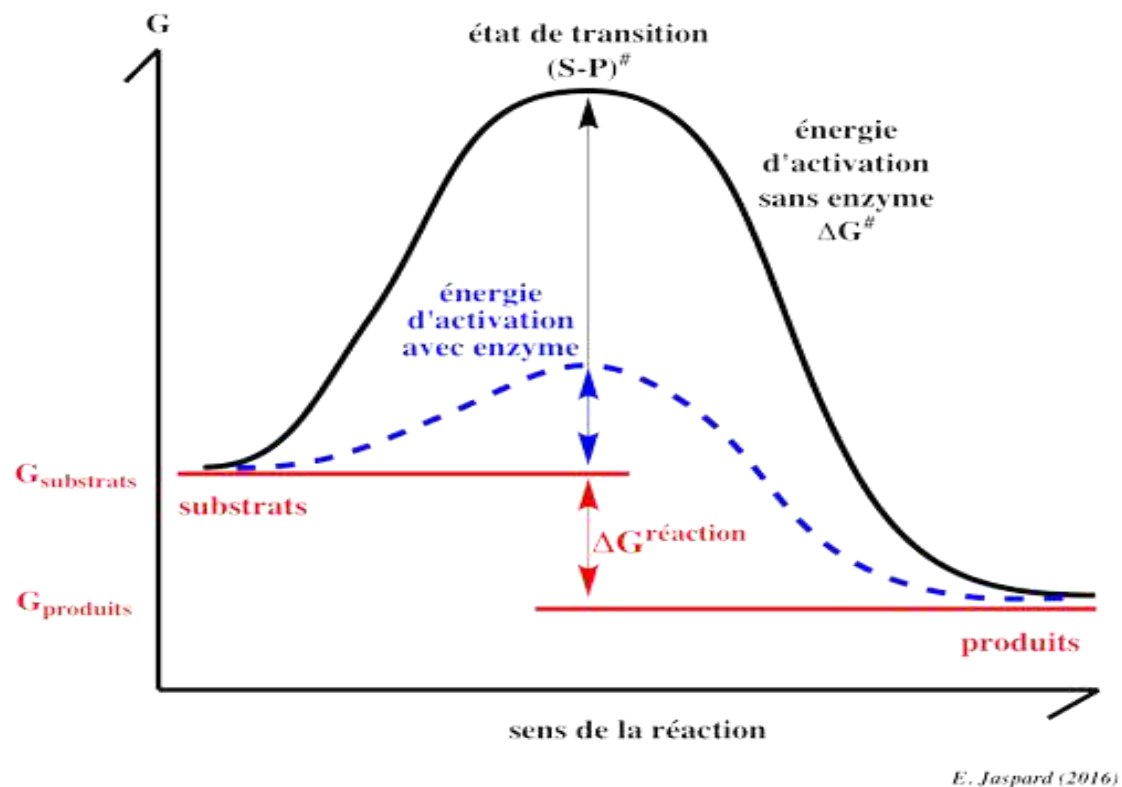
4. Mécanismes de la catalyse Enzymatique

a. Notion de site actif

Pour que l'enzyme fonctionne, elle doit se combiner avec son (ou ses) substrat(s). Chaque enzyme présente un site actif, poche ou crevasse, capable de fixer spécifiquement le substrat, et contenant les groupements catalytiques responsables de la transformation de ce dernier en produit. Le site actif jouera donc deux rôles : rôle de fixation du substrat et rôle catalytique.

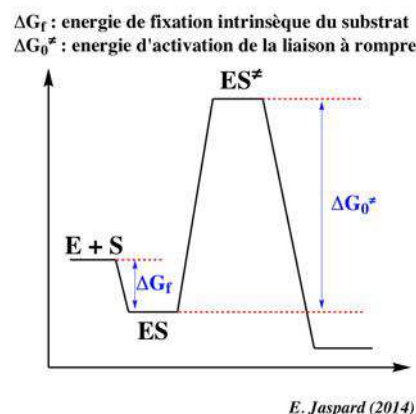
b. Caractères communs à tous les catalyseurs

Les enzymes se retrouvent intactes à la fin de la réaction, identiques à ce qu'elles étaient avant de lier le ou les substrats. De même, les enzymes ne modifient en rien le bilan énergétique des réactions qu'elles catalysent. L'enthalpie libre réactionnelle ($\Delta_r G'$) reste le même, qu'une réaction soit catalysée ou non. Seule, l'enthalpie libre d'activation ($\Delta G^\ddagger$) est modifiée (diminuée) ce qui a pour conséquence l'augmentation de la vitesse de la réaction (Fig 2). La théorie de l'état de transition établit la relation entre l'enthalpie libre d'activation et la vitesse de la réaction.



Théorie de l'état de transition

Pour qu'une molécule de substrat se transforme en produit, il faut qu'elle passe par un état activé, de contenu énergétique plus élevé, l'état de transition de la réaction. La différence d'énergie entre l'état de transition et l'énergie des molécules de substrat reçoit le nom **d'enthalpie libre d'activation** $\Delta G^\ddagger$. Si l'on montre sur un diagramme l'évolution énergétique du substrat S au cours de la réaction (Fig 3), on réalise que $\Delta G^\ddagger$ représente **une barrière énergétique** dont le franchissement s'avère nécessaire pour la formation du produit.



c. Les différents mécanismes de la catalyse enzymatiques

La raison que les enzymes sont des catalyseurs puissants est due à leur spécificité de liaison au substrat et leurs arrangements optimaux des groupements catalytiques.

Les mécanismes que les enzymes utilisent sont classifiés de manière suivante :

- L'enzyme fournit les groupes accepteur/donneur de protons, dans un mécanisme de catalyse acide/base.
- L'enzyme peut se combiner de façon covalente avec le substrat pour former un intermédiaire qui permet une réaction plus rapide.
- L'enzyme utilise des ions comme co-facteurs, pour stabiliser différentes charges (intermédiaires), pour ioniser les molécules d'eau et les rendre plus nucléophiles, et/ou pour cacher des charges.
- L'enzyme utilise les forces électrostatiques, pour aligner le substrat et stabiliser l'état de transition.
- L'enzyme fixe le substrat de telle sorte que les liens réactionnels sont situés près du site catalytique et sont orientés de telle sorte que l'état de transition est atteint très rapidement.
- L'enzyme peut induire la distorsion et/ou la tension au niveau du lien à couper, ce qui le déstabilise et le rend plus facile à couper. L'enzyme fixe donc préférentiellement le substrat sous forme d'état de transition.

5. Cinétique Enzymatique

L'étude de la cinétique des réactions enzymatiques regroupe un ensemble de méthodes qui donne aux biochimistes les premiers outils dans la compréhension du fonctionnement des enzymes. Si l'analyse cinétique fournit relativement peu de renseignements sur les mécanismes catalytiques, elle permet néanmoins de dégager des paramètres fondamentaux relatifs à la spécificité des enzymes, à l'affinité pour les substrats et les inhibiteurs, au pouvoir catalytique et à l'efficacité.

a. Conditions expérimentales

L'enzyme de préférence purifiée, est introduite dans un milieu dont le pH est maintenu constant par un tampon, et qui contient le substrat à une concentration déterminée $[S]_0$. La concentration du produit est nulle avant la mesure de la vitesse de la réaction. L'une des conditions essentielles pour que l'analyse des résultats expérimentaux relève des calculs qui suivent est que la concentration d'enzyme soit bien plus faible que la plus petite concentration du substrat utilisé.

b. Notion de vitesse initiale

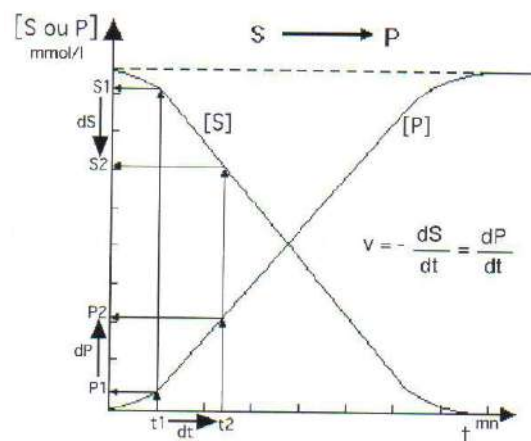
Au cours des études cinétiques, l'expérimentateur mesure les vitesses des réactions et analyse leurs variations en fonctions des modifications du milieu : concentration de substrat, pH, température, présence ou absence d'inhibiteurs ou d'activateurs. Chaque fois que l'on parle de vitesse, il s'agit de vitesse initiale.

Lorsqu'on met l'enzyme en présence du substrat, on observe la formation du produit. La courbe qui représente la variation de la concentration du produit en fonction du temps permet de mesurer la vitesse initiale. On entend par vitesse initiale d'une réaction enzymatique la pente de la partie rectiligne de la courbe $[P] = f(t)$, pratiquement, on mesure la tangente à la courbe expérimentale près de l'origine du diagramme

5.1 Effet de la concentration d'enzyme

a. Vitesse de réaction

- Pour mesurer l'activité d'une réaction enzymatique n'ayant qu'un substrat et un produit, dans un milieu défini, on observe les concentrations du substrat ou du produit, qui sont des fonctions du temps écoulé : la concentration du substrat décroît au cours du temps, celle du produit croît au cours du temps.
- Lorsqu'on fait ces mesures à des temps t_1 puis t_2 séparés par un délai dt , on appelle S_1 et P_1 les concentrations du substrat et du produit au temps t_1 , et S_2 et P_2 les concentrations du substrat et du produit au temps t_2 . La différence entre les concentrations du substrat dS est l'opposé de la différence entre les concentrations du produit dP . On appelle vitesse de la réaction le rapport moins dS sur dt , qui est égal au rapport dP sur dt . La vitesse de réaction représente le nombre de moles de substrat transformées en moles de produit, dans un volume donné et dans un temps donné.

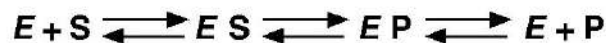
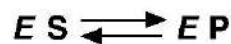


b. Phases de la réaction

- Dans un premier temps, chaque molécule d'enzyme va se lier à une molécule de substrat. Ce complexe peut bien sûr se redissocier.
- L'effet catalytique de l'enzyme transforme alors le complexe enzyme-substrat en complexe enzyme-produit. Si la réaction aboutit à un équilibre, cette phase de la réaction est réversible.

- Dans un dernier temps, le complexe enzyme-produit peut se dissocier. Si la réaction est réversible, le produit devient substrat en s'associant à l'enzyme pour revenir ensuite au point de départ.
- En somme, dans le cas d'une réaction réversible six réactions chimiques participent à cet équilibre entre les concentrations du substrat et du produit, de l'enzyme et des complexes E S et E P.

Phases de la réaction



En mesurant la concentration du produit P en fonction du temps. Dans un milieu où il n'y a au temps 0 que des molécules de l'enzyme et du substrat, la réaction se déroule de façon non uniforme.

- On distingue une première phase très brève, au cours de laquelle la vitesse de la réaction est croissante. Durant cette phase, les molécules de substrat se lient avec l'enzyme : la concentration du complexe enzyme-substrat augmente.
- Lorsque toutes les molécules de l'enzyme sont occupées par des molécules du substrat la vitesse de la réaction est maximum et reste constante tant que la concentration du substrat est grande et celle du produit petite. C'est ce qu'on observe lors des premières mesures.
- Lorsque la concentration du produit augmente, la réaction inverse commence à concurrencer celle qu'on mesurait : la vitesse diminue.
- Enfin dans une dernière phase, tardive, la vitesse de la transformation inverse devient égale à celle de départ : les concentrations ne changent plus, on est à l'équilibre.

c. Vitesse initiale

Durant la phase stationnaire, la vitesse est constante : on l'appelle vitesse initiale.

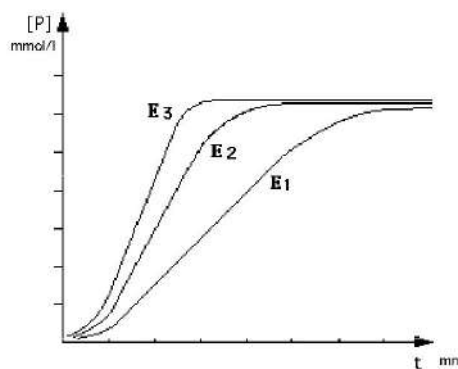
- C'est une phase de la réaction où un nombre maximum des molécules de l'enzyme sont liées à des molécules de substrat. Le rapport enzyme lié sur enzyme total est maximum. Dans ces conditions, l'efficacité catalytique de l'enzyme est la plus grande, donc la vitesse initiale est la plus grande de toutes les vitesses qu'on peut mesurer en fonction des phases de la réaction.
- Dans la suite de ce cours, la vitesse étudiée sera toujours la vitesse initiale.

5.2 Effet de la Concentration de l'enzyme

a. concentration de l'enzyme

Examinons l'évolution de la réaction lorsqu'on change la concentration de l'enzyme.

- Les mesures de la concentration du produit en fonctions du temps sont différentes pour chacune des concentrations de l'enzyme essayées. Lorsque la concentration de l'enzyme est grande (par exemple E3) la vitesse initiale est plus grande que lorsque la concentration de l'enzyme est petite (par exemple E1).



Lorsqu'une enzyme existe à la fois sous une forme active (capable de catalyser la réaction) et sous une forme inactive, la concentration efficace de l'enzyme est celle de la forme active seule.

- Toutes les modifications de la structure postérieures à la synthèse de l'enzyme, qui font passer les molécules de l'enzyme de la forme inactive à la forme active, ont pour effet d'augmenter la concentration efficace de l'enzyme et donc la vitesse de la réaction catalysée.

- Ces modifications peuvent être :

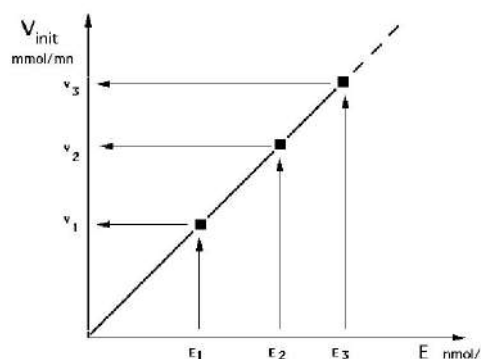
- l'hydrolyse d'un fragment de la chaîne d'acides aminés: activation des zymogènes en enzymes actives au cours de la digestion, activation des facteurs de la coagulation du sang ;

- le transfert d'un radical Phosphoryl- sur un acide aminé de l'enzyme : phosphorylation des enzymes pour augmenter le taux de glucose dans le sang, déphosphorylation des enzymes pour diminuer le taux de glucose dans le sang ;

- la fixation d'un groupement prosthétique sur l'enzyme : ion Zinc sur les déshydrogénases à NAD, flavine sur les flavoprotéines, hème sur les cytochromes ;

- le transfert de radicaux Acyl- ou Alkyl- sur des acides aminés de l'enzyme.

b. Dosage enzymatique



- Représentons cette fois ces vitesses initiales en fonction des concentrations E_1 , E_2 et E_3 de l'enzyme. Il apparaît que les vitesses mesurées sont linéairement proportionnelles aux concentrations de l'enzyme utilisées.

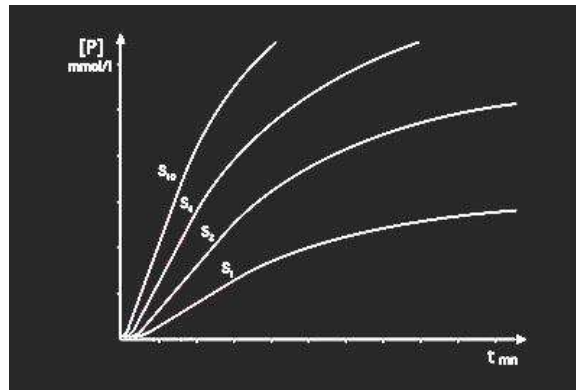
- Cette constatation est le fondement du dosage enzymatique : en effet, la vitesse initiale d'une réaction enzymatique dans un milieu où la concentration de l'enzyme est inconnue est proportionnelle à cette concentration. En comparant cette vitesse initiale (qu'on appelle dosage enzymatique) à celles d'autres milieux de concentration en enzyme connues, on peut évaluer la concentration en enzyme qu'on cherchait. Ces dosages enzymatiques sont des mesures d'activités catalytiques qu'on exprime dans le Système International en Katal, unité qui représente une quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation d'une mole de substrat en une seconde. En pratique médicale, le microkatal et le nanokatal sont les sous-multiples correspondant à l'ordre de grandeur des activités mesurées. Pour exprimer des concentrations d'enzyme on rapporte au volume considéré et l'unité devient le nanokatal par litre par exemple.
- L'Unité Internationale est une ancienne unité de mesure représentant la quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation d'une micromole de substrat en une minute. Une Unité Internationale égale 15 nanokatal.

6. Effet de la concentration de substrat

a. concentration de substrat

Examinons à nouveau l'évolution de la réaction lorsqu'on change cette fois-ci la concentration du substrat.

- Les mesures de la concentration du produit en fonction du temps sont différentes pour chacune des concentrations de substrat essayées. Lorsque la concentration du substrat est grande (par exemple S_{10}) la vitesse initiale est plus grande que lorsque la concentration du substrat est petite (par exemple S_1).
- On peut mesurer ces vitesses initiales en calculant la différence de concentration de produit au cours d'un temps donné, pour chaque concentration du substrat.

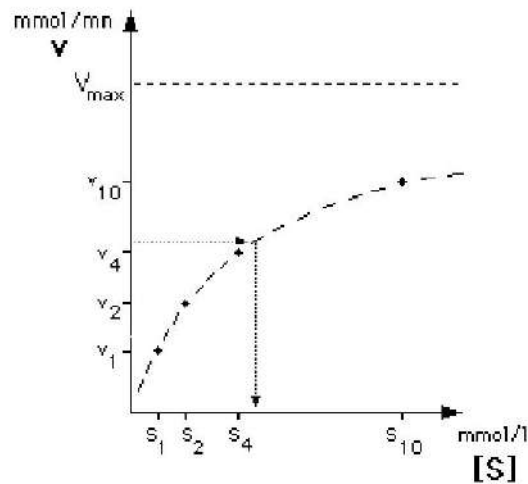


b. Cinétique michaélienne

Représentons cette fois ces vitesses initiales en fonction des concentrations du substrat que nous avons essayées.

- Les vitesses mesurées croissent en fonction des concentrations du substrat. Mais cette relation n'est pas linéaire : le graphe de cette fonction est une hyperbole (tirets longs).
- Lorsque la concentration du substrat est nulle la vitesse est évidemment 0, donc l'hyperbole passe par l'origine du graphe. La fonction n'a pas de sens en dessous de cette origine. Lorsque la concentration du substrat tend vers l'infini, l'hyperbole se rapproche de son asymptote matérialisée par les tirets courts.
- Pour définir complètement une telle courbe il suffit d'indiquer un de ses points et l'asymptote.

Nous savons en plus que la courbe passe par l'origine. L'asymptote correspond à la vitesse initiale qu'on observerait si la concentration du substrat était infinie, c'est à dire à la vitesse maximum possible. Définissons le point de la courbe pour lequel l'ordonnée est égale à la moitié de celle de l'asymptote. L'abscisse de ce point est une concentration de substrat pour laquelle on peut mesurer une vitesse initiale égale à la moitié de la vitesse maximum. On appelle cette concentration la constante de Michaelis.



c. Vitesse maximale

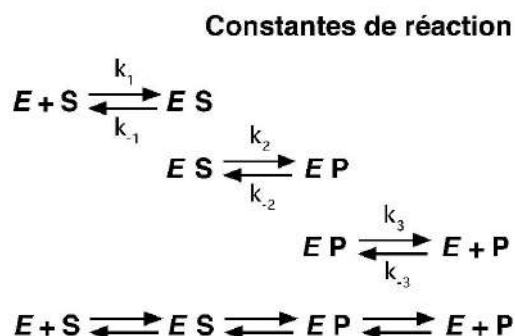
La vitesse maximum est la vitesse initiale théorique d'une réaction enzymatique pour une concentration infinie de substrat

Cette vitesse ne peut pas être observée puisqu'il est impossible de réaliser dans le milieu une concentration infinie de substrat.

d. Constante de Michaelis

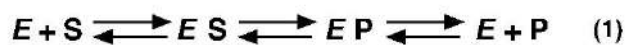
La constante de Michaelis, correspond à une grandeur physiquement mesurable, c'est la concentration du substrat pour laquelle la vitesse initiale d'une réaction enzymatique atteint la moitié de la vitesse maximum.

d. Etablissement de l'équation de Michaelis-Menten

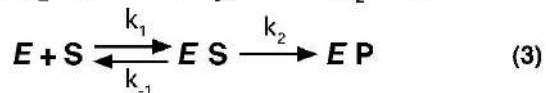
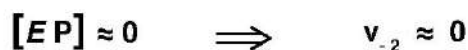
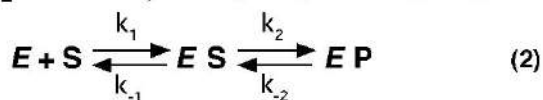


- Revenons aux étapes moléculaires de la réaction pour étudier mathématiquement le sens de ces deux paramètres géométriques. Six réactions chimiques entre les molécules représentées sont possibles.
- La vitesse de chacune d'elles est fonction des concentrations des molécules au départ et d'une constante k caractéristique de la réaction.
- Ainsi, dans l'association de l'enzyme avec le substrat (ligne du haut, de gauche à droite), la vitesse sera égale au produit de la concentration de l'enzyme, de la concentration du substrat et d'une constante k_1 . La constante caractéristique de la réaction inverse sera appelée k_{-1} . Et ainsi de suite dans les autres réactions avec les constantes k_2 et k_{-2} , k_3 et k_{-3} .

6.1.4 Phase stationnaire



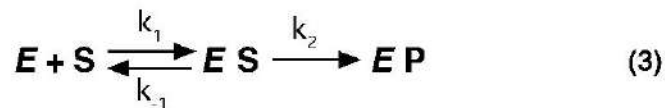
Phase stationnaire



- Dans les conditions de nos mesures, il n'existe dans le milieu que des molécules d'enzyme et de substrat qui s'associent en complexes enzyme-substrat.
- La concentration du produit est nulle au départ et négligeable par rapport à celle du substrat durant la phase stationnaire. En conséquence, la concentration du complexe enzyme-produit durant cette phase est très petite par rapport à celle du complexe ES .
- La réaction de dissociation du complexe EP (à droite de la ligne 1) est donc inexistante et la réaction se simplifie comme le montre la ligne 2.

- La concentration très petite du complexe enzyme-produit entraîne que la vitesse v_2 de la transformation de ce complexe $E P$ en complexe $E S$ est aussi négligeable.
- La ligne 3 résume donc les trois réactions réellement en activité au cours de la phase stationnaire.

6.1.5 Equation de la vitesse



$$v = k_2 [E S] \Rightarrow V_{\max} = k_2 [E_{\text{total}}] \quad (4 \Rightarrow 5)$$

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{k_2 [E S]}{k_2 [E_{\text{total}}]} \quad (6)$$

Equation
de la
vitesse

$$v = V_{\max} \frac{[E S]}{[E_{\text{total}}]}$$

(7)

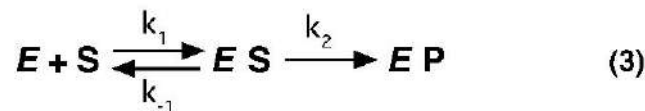
La vitesse de la réaction enzymatique est la vitesse d'apparition du produit dans le milieu.

Dans les conditions initiales (ligne 3), $v = k_2 [E S]$. Si la concentration du substrat était infinie, toutes les molécules de l'enzyme seraient liées à des molécules de substrat et la concentration du complexe $[E S] = [E_{\text{total}}]$. La vitesse initiale qu'on obtiendrait alors (qui est donc la vitesse maximum) est donc $V_m = k_2 [E_{\text{total}}]$.

- Nous pouvons donc écrire l'égalité des rapports des deux membres des équations 4 et 5 ce qui donne l'égalité 6 et multiplier les deux membres de celle-ci par la vitesse maximum.
- La ligne 7, l'équation de la vitesse montre que la vitesse initiale réelle est égale à la vitesse maximum multipliée par le rapport des concentrations du complexe $[E S]$ et de l'enzyme totale.

- Plus le nombre de molécules d'enzyme qui sont liées au substrat se rapproche de la totalité de l'enzyme, plus la vitesse réelle se rapproche de la vitesse maximum.

6.1.6 Equation de la conservation de l'enzyme



$$E_{\text{total}} = E + ES + EP \quad (8)$$

$$EP \approx 0$$

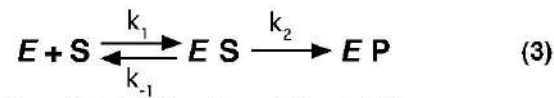
Equation de la conservation de l'enzyme

$[E_{\text{total}}] = [E] + [ES]$	(9)
-----------------------------------	-----

Reprenons la ligne 3 pour examiner quelles molécules d'enzyme sont présentes durant la phase stationnaire.

- L'enzyme totale est répartie en molécules d'enzyme libre, de complexe $[ES]$ et de complexe EP .
- La quantité de complexe EP avoisine 0 et peut être négligée. Nous pouvons donc écrire la ligne 9, dite équation de la conservation de l'enzyme pour exprimer que dans un volume donné, la concentration de l'enzyme totale est la somme de la concentration de l'enzyme libre et de la concentration du complexe enzyme-substrat.

6.1.7 Constante de Michaelis



formation de ES = dissociation de ES

$$k_1 [E] [S] = (k_{-1} + k_2) [ES] \quad (10)$$

$$[E] = [E_{\text{total}}] - [ES] \quad (9)$$

$$k_1 ([E_{\text{total}}] - [ES])[S] = (k_{-1} + k_2) [ES] \quad (11)$$

Constante de MICHAELIS (12)

$$\boxed{\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{([E_{\text{total}}] - [ES])[S]}{[ES]} = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1} = K_m}$$

Durant la phase stationnaire, la concentration du complexe enzyme-substrat est constante.

Donc la vitesse de formation de ce complexe $[ES]$ doit être égale à celle de dissociation de ce même complexe. D'après la ligne 3, il n'y a qu'une réaction de formation du complexe $[ES]$ dont la vitesse est $v_1 = k_1 [E][S]$.

- Il y a au contraire 2 réactions diminuant la concentration du complexe $[ES]$: l'une est la dissociation dont la vitesse est $v_{-1} = k_{-1} [ES]$, l'autre est la transformation enzymatique proprement dite dont la vitesse est $v_2 = k_2 [ES]$.

- Mettons $[ES]$ en facteur dans le second membre.

- D'après l'équation de la conservation de l'enzyme (ligne 9), on peut remplacer dans le premier membre la concentration de l'enzyme libre par la différence entre la concentration de l'enzyme totale et celle du complexe $[ES]$.

- Ce qui donne la ligne 11, dont nous pouvons diviser les deux membres par k_1 ou par la concentration d' $[ES]$ pour aboutir à une expression qu'on appelle constante de Michaelis ou K_m et qui est proche de la constante de dissociation du complexe $[ES]$.

- Cette constante K_m est inversement proportionnelle à l'affinité de l'enzyme pour le substrat.

Démonstration

D'après la ligne 12, K_m est le produit de la différence entre les concentrations de l'enzyme totale et de l'enzyme-substrat, multipliée par la concentration du substrat et divisée par la concentration du complexe $E S$. Mettons en facteur la concentration du substrat (ligne 13) puis effectuons la multiplication (ligne 14) avant de faire passer les termes concentration de substrat dans le deuxième membre

$$\frac{([E_{\text{total}}] - [E S])[S]}{[E S]} = K_m \quad (12)$$

$$\left(\frac{[E_{\text{total}}]}{[E S]} - 1 \right) [S] = K_m \quad (13)$$

$$\frac{[E_{\text{total}}][S]}{[E S]} - [S] = K_m \quad (14)$$

$$\frac{[E_{\text{total}}][S]}{[E S]} = K_m + [S] \quad (15)$$

- En prenant les inverses des deux membres, on aboutit (ligne 17) à une expression du rapport de la concentration du complexe $E S$ à celle de l'enzyme totale en fonction d'une constante et de notre variable, la concentration

$$\frac{[E_{\text{total}}][S]}{[E S]} = K_m + [S] \quad (15)$$

$$\frac{[E_{\text{total}}]}{[E S]} = \frac{K_m + [S]}{[S]} \quad (16)$$

$$\frac{[E S]}{[E_{\text{total}}]} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (17)$$

6.2 Equation de Michaelis & Menten

$$v = V_{\max} \frac{[E S]}{[E_{\text{total}}]} \quad (7)$$

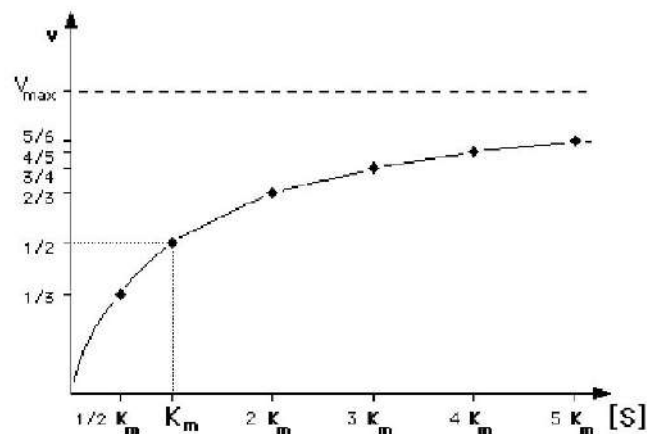
$$\frac{[E S]}{[E_{\text{total}}]} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (17)$$

Equation de MICHAELIS & MENTEN :

$$v = V_{\max} \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (18)$$

6.3 Hyperbole de Michaelis-Menten

Le graphe représentant cette fonction dans tout le domaine où elle a un sens physique, confirme ces conclusions mathématiques.



- Le calcul de la vitesse initiale à partir de concentrations de substrat égales à des multiples entiers de K_m aboutit à des fractions entières de la vitesse maximum. On trace une hyperbole à partir des points obtenus, qui permet de voir la signification réelle des paramètres géométriques K_m et $V_{\max}$ que nous avons choisis au début de cette étude.
- $V_{\max}$ est une vitesse initiale que la réaction aurait si la concentration du substrat était infinie.
- K_m est la concentration du substrat pour laquelle on observe une vitesse égale à la moitié de la vitesse maximum.

- Malheureusement, l'extrapolation d'une hyperbole à partir de quelques points n'est pas facile et ne permet pas de faire le tracé d'une telle courbe à partir des mesures de vitesses initiales faites réellement au cours d'expériences avec des concentrations de substrat différentes.

Pour écrire la ligne 19, on a pris les inverses des deux membres de l'équation de Michaelis & Menten.

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} \cdot \frac{K_m + [S]}{[S]} \quad (19)$$

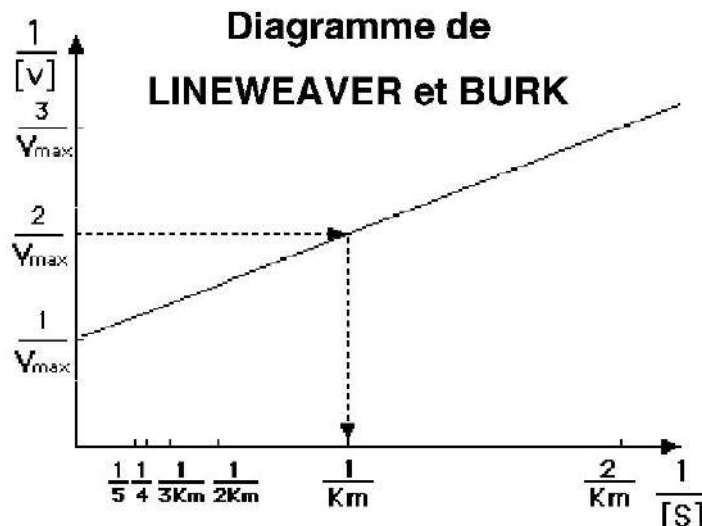
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]} \quad (20)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]} \quad (21)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (22)$$

- En effectuant le produit des facteurs du second membre (ligne 20) en séparant les deux termes additifs du numérateur (ligne 21) puis le facteur contenant la variable S (ligne 22) l'équation de Michaelis & Menten prend alors une allure de fonction linéaire de type $y = ax + b$. Dans cette transformation due à LINEWEAVER et BURK, l'inverse de la vitesse initiale est exprimé en fonction de l'inverse de la concentration du substrat et des constantes K_m et $V_{\max}$.

6.4 Diagramme de Lineweaver et Burk



Le graphe représentant cette fonction linéaire est appelé graphe en double inverse puisque les deux variables sont respectivement les inverses des variables de l'hyperbole précédente. Sur l'axe des x , les concentrations croissantes du substrat ont des inverses qui diminuent de sorte que le croisement des axes représente l'inverse d'une concentration infinie du substrat, alors que la plus petite concentration voit son inverse ($2 / K_m$) repoussé à l'extrémité de l'axe. De même sur l'axe des y , les inverses des vitesses les plus lentes sont les plus haut situés. L'étude de cette fonction montre que l'ordonnée à l'origine est égale à l'inverse de la vitesse maximum. Le double de cette ordonnée correspond à l'inverse de la moitié de la vitesse maximum et par conséquent l'abscisse du point de la droite qui a cette ordonnée est l'inverse du K_m . Une telle droite est facile à tracer à partir des mesures expérimentales pourvu qu'on exprime les résultats en inverses des vitesses initiales en fonction des inverses des concentrations de substrat choisies. Cette extrapolation permet de déterminer graphiquement les valeurs cherchées des constantes V_{max} et K_m .

7. Effet de la concentration des effecteurs

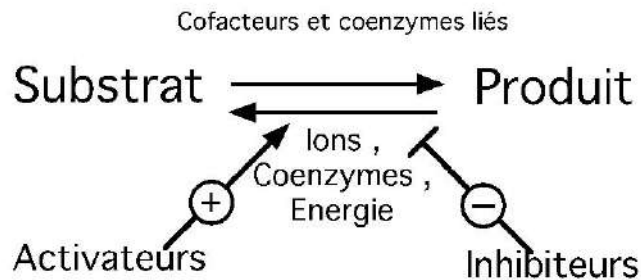
Le substrat et le produit, l'enzyme, les ions, les coenzymes et l'énergie sont les facteurs indispensables à la réaction enzymatique. Les autres

molécules qui entrent en liaison avec l'enzyme, les ligands, peuvent avoir un effet positif ou négatif. Ils peuvent accélérer (activateurs) ou au contraire ralentir (inhibiteurs) le déroulement de la réaction.

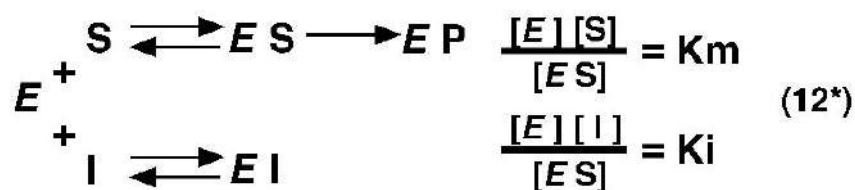
Masse Moléculaire
Isoenzymes

Classification

Enzyme



7.1 Inhibition compétitive



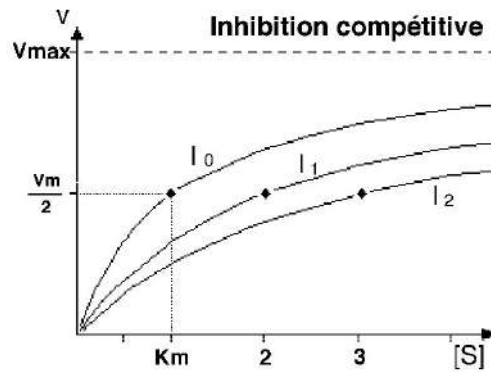
$$[E_{\text{total}}] = [E] + [ES] + [EI] \quad (9^*)$$

$$v = V_{\text{max}} \frac{[ES]}{[E_{\text{total}}]} \quad (7^*)$$

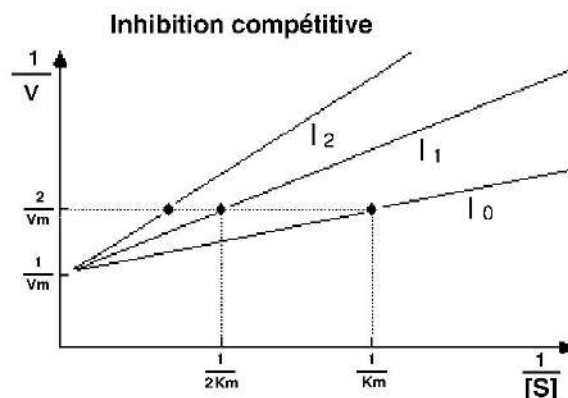
$$v = V_{\text{max}} \frac{[S]}{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S]} \quad (18^*)$$

Lorsque la liaison d'un inhibiteur sur l'enzyme a pour effet d'empêcher la liaison enzyme substrat, on parle d'inhibition compétitive vis à vis de ce substrat. Concurrément à la liaison enzyme-substrat il y a une liaison enzyme-inhibiteur qui aboutit à un complexe $[EI]$ inactif. La constante

de dissociation de ce complexe $[E I]$ soit K_i est définie par rapport aux concentrations de l'enzyme libre, de l'inhibiteur et du complexe $E I$.



Le graphe en double inverse montre la droite représentant la situation sans inhibiteur (I_0) et les droites représentant l'effet des concentrations I_1 et I_2 de l'inhibiteur. L'inverse de la vitesse maximum, inchangée, représente le point commun de toutes ces droites : ceci est caractéristique des graphes en double inverse en présence de différentes concentrations d'un inhibiteur compétitif.



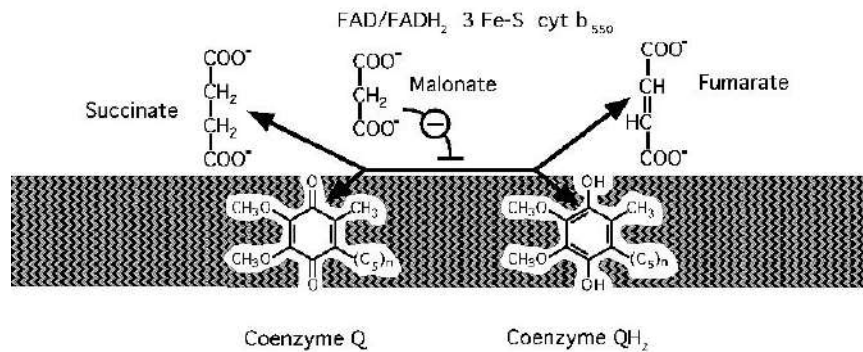
$$v = V_{\max} \frac{[S]}{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S]} \quad (18^*)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i})}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (22^*)$$

130000

1.3.5.1

Succinate déshydrogénase (Complexe II)



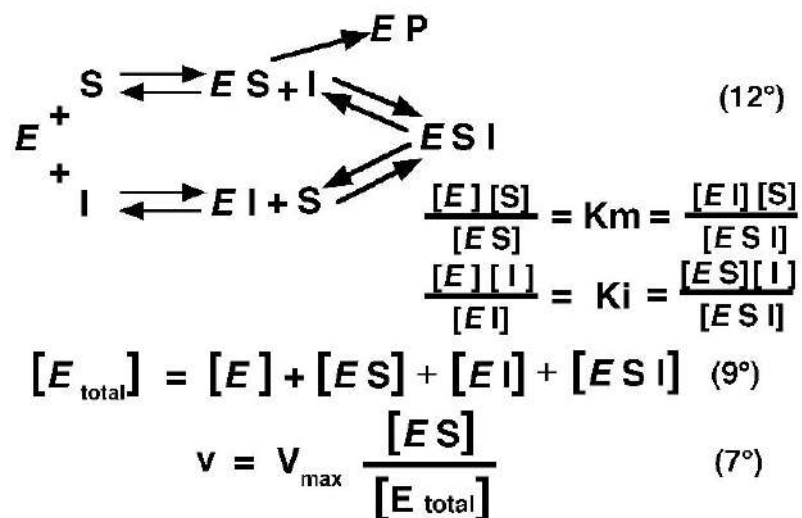
La succinate déshydrogénase est une enzyme de la membrane interne de la mitochondrie. Sa structure est complexe et comporte plusieurs coenzymes liés.

- La réaction catalysée est une oxydation du succinate en fumarate avec transfert des hydrogènes sur le coenzyme Q. Le succinate est un diacide à 4 carbones, qui se fixe à l'enzyme grâce aux charges négatives de ses fonctions acides ; l'enzyme peut alors déplacer les deux hydrogènes des carbones centraux.
- Le malonate est aussi un diacide et la distance entre ses deux charges négatives est voisine de celle qui sépare les deux fonctions acides du succinate : le malonate peut se fixer aussi sur le site actif de l'enzyme, mais la structure de son unique carbone intermédiaire ne permet

évidemment pas l'oxydation; la liaison de la succinate déshydrogénase avec le malonate rend donc l'enzyme inactive. Une concentration plus élevée de l'un de ces deux diacides chassera l'autre du site actif de l'enzyme, de sorte qu'il y a bien compétition des deux molécules vis-à-vis de l'enzyme.

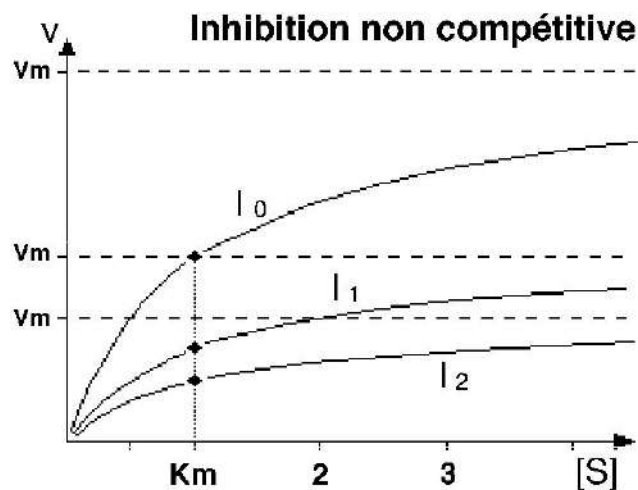
7.2 Inhibition non compétitive

Lorsque la liaison d'un inhibiteur sur l'enzyme se fait sur un site tout à fait indépendant du site actif, il n'y a évidemment aucune compétition entre le substrat et l'inhibiteur. L'inhibiteur en se liant rend la molécule d'enzyme incapable de catalyser la réaction : on parle alors d'inhibition non compétitive.



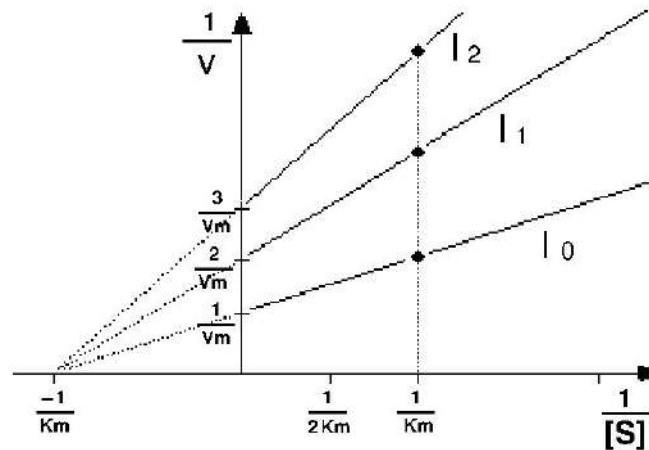
$$v = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (18^\circ)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m(1 + \frac{[I]}{K_i})}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1 + \frac{[I]}{K_i}}{V_{\max}} \quad (22^\circ)$$



Le graphe en double inverse montre la droite représentant la situation sans inhibiteur (I_0) et les droites représentant l'effet des concentrations I_1 et I_2 de l'inhibiteur.

Inhibition non compétitive



- L'inverse de la vitesse maximum augmente avec la concentration de l'inhibiteur de même que la pente de la droite. Pour chacune de ces droites, le point qui a pour ordonnée le double de l'ordonnée à l'origine (losanges) correspond toujours à la même abscisse qui est l'inverse du K_m . Le point commun de toutes ces droites est situé à gauche de l'axe des y, dans une partie du graphe qui n'a pas de sens physique puisqu'on est au-delà d'une concentration infinie du substrat ! Mais le calcul de cette abscisse montre qu'elle est de $-1/K_m$ ce qui permet une détermination graphique facile de cette constante. La rencontre de toutes les droites en ce point de l'axe des x est caractéristique des graphes en double inverse en présence de différentes concentrations d'un inhibiteur non compétitif.

Exemple de l'inhibition non compétitive

L'anhydrase carbonique, que nous avons déjà rencontrée comme exemple, est inhibée par l'acétazolamide qui est un médicament.

- Cette inhibition est non compétitive vis à vis du gaz carbonique, substrat de l'enzyme.

8. Effet des constantes physiques

8.1 Effet du pH

L'enzyme, les substrats, les cofacteurs sont les corps chimiques qui interviennent obligatoirement dans la réaction enzymatique.

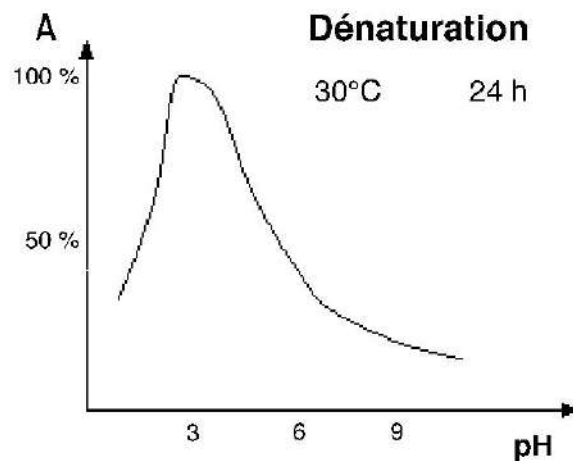
- Parmi les facteurs qui interviennent il y a aussi des facteurs physiques : le pH et la température

par exemple. Le pH intervient de deux manières différentes : soit en modifiant la structure secondaire ou tertiaire de l'enzyme, soit en modifiant les charges électriques des radicaux des acides aminés du site actif.

- Lorsqu'une enzyme est conservée dans un milieu dont le pH est défavorable au maintien de sa structure, elle va subir une dénaturation.
- Examinons cet effet sur un graphe représentant l'activité résiduelle d'une enzyme qui a été conservée pendant 24 heures à une température de 30°C., en fonction du pH de ce milieu de conservation.
- A pH 3 cette enzyme a été conservée dans des conditions optimales et son activité résiduelle est la plus grande : 100%.

A pH 6 l'enzyme a subi une dénaturation partielle si bien qu'au bout de 24 heures son activité n'est plus que de la moitié de ce qu'elle aurait été si on l'avait conservée à pH 3.

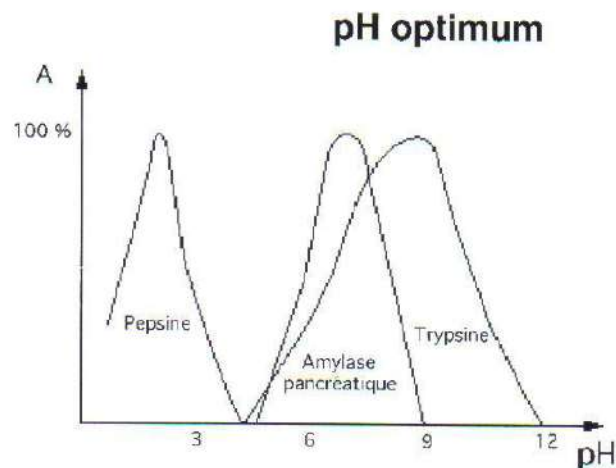
A pH 9 ou bien en dessous de pH 3, cet effet dénaturant est encore plus marqué.



pH Optimum

Les enzymes de la digestion des protéines ont des pH optimums différents pour s'adapter aux conditions de pH qui règnent dans la lumière aux différents étages du tube digestif. Ainsi l'activité de la pepsine est maximum pour un milieu très acide comme celui de l'estomac où elle est sécrétée. Au contraire les enzymes pancréatiques comme l'amylase et la

trypsine, ont un pH optimum d'action plus alcalin car dans le duodénum où elles exercent leur activité le pH est normalement proche de 8.

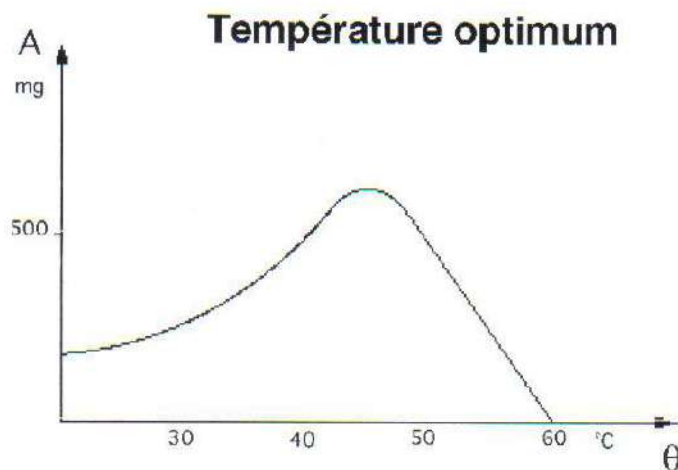


8.2 Effet de la température

8.2.1 Température optimum

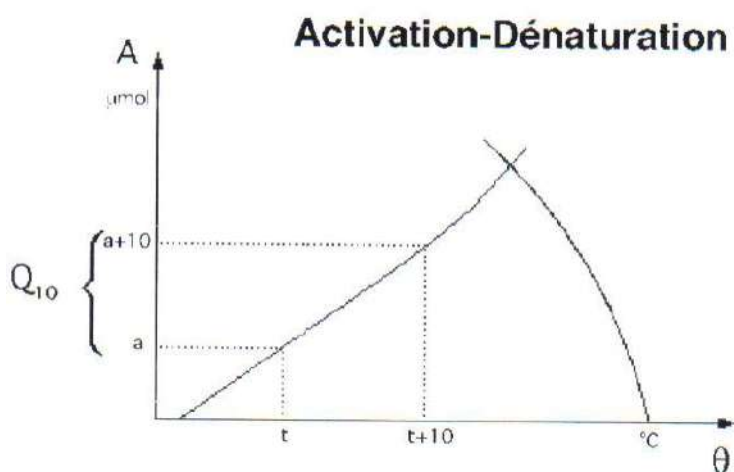
Examinons maintenant l'effet de la température du milieu sur la réaction enzymatique qui s'y déroule.

- Le graphe qui représente les quantités de produit transformées par une enzyme (A) en fonction de la température (θ) du milieu d'incubation, est une courbe ascendante jusqu'à une température (ici 45°C .) où l'activité de l'enzyme est la plus grande, puis rapidement descendante.



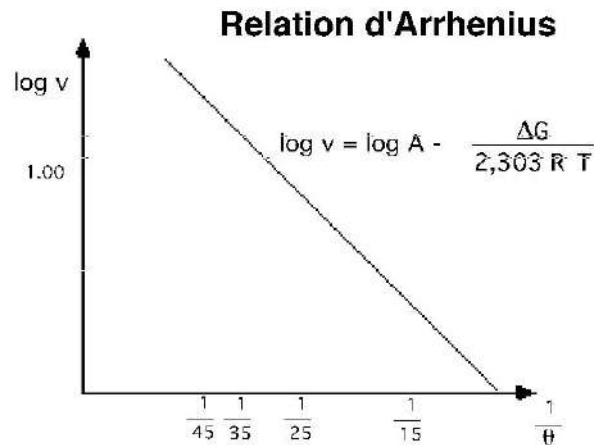
8. 2.2 Activation ; dénaturation

- Ce type de courbe est la somme de deux effets superposés de la température sur la vitesse de la réaction enzymatique.
- Au dessus de 40 ou 45°C, la chaleur dénature les structures secondaires et tertiaires de l'enzyme et l'activité tend rapidement vers zéro.
- Pour les températures inférieures, la chaleur du milieu apporte un supplément d'énergie qui facilite la réaction enzymatique.
- Pour mesurer cet effet de la température sur l'activité de l'enzyme on compare l'activité de l'enzyme pour une température t avec l'activité pour une température $t + 10^\circ\text{C}$. Cette différence d'activité appelée Q_{10} est le paramètre permettant de mesurer l'activation de l'enzyme par la chaleur.



8.2.3 Relation d'Arrhenius

La vitesse de réaction pour les températures non dénaturantes (ici en dessous de 45°C.) est reliée à la température par la relation d'Arrhenius qui montre que le logarithme de cette vitesse est inversement proportionnel à l'inverse de cette température.



La vitesse de réaction pour les températures non dénaturantes (ici en dessous de 45°C.) est reliée à la température par la relation d'Arrhenius qui montre que le logarithme de cette vitesse est inversement proportionnel à l'inverse de cette température.

Bon courage



LIENS UTILES 🙌

Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

