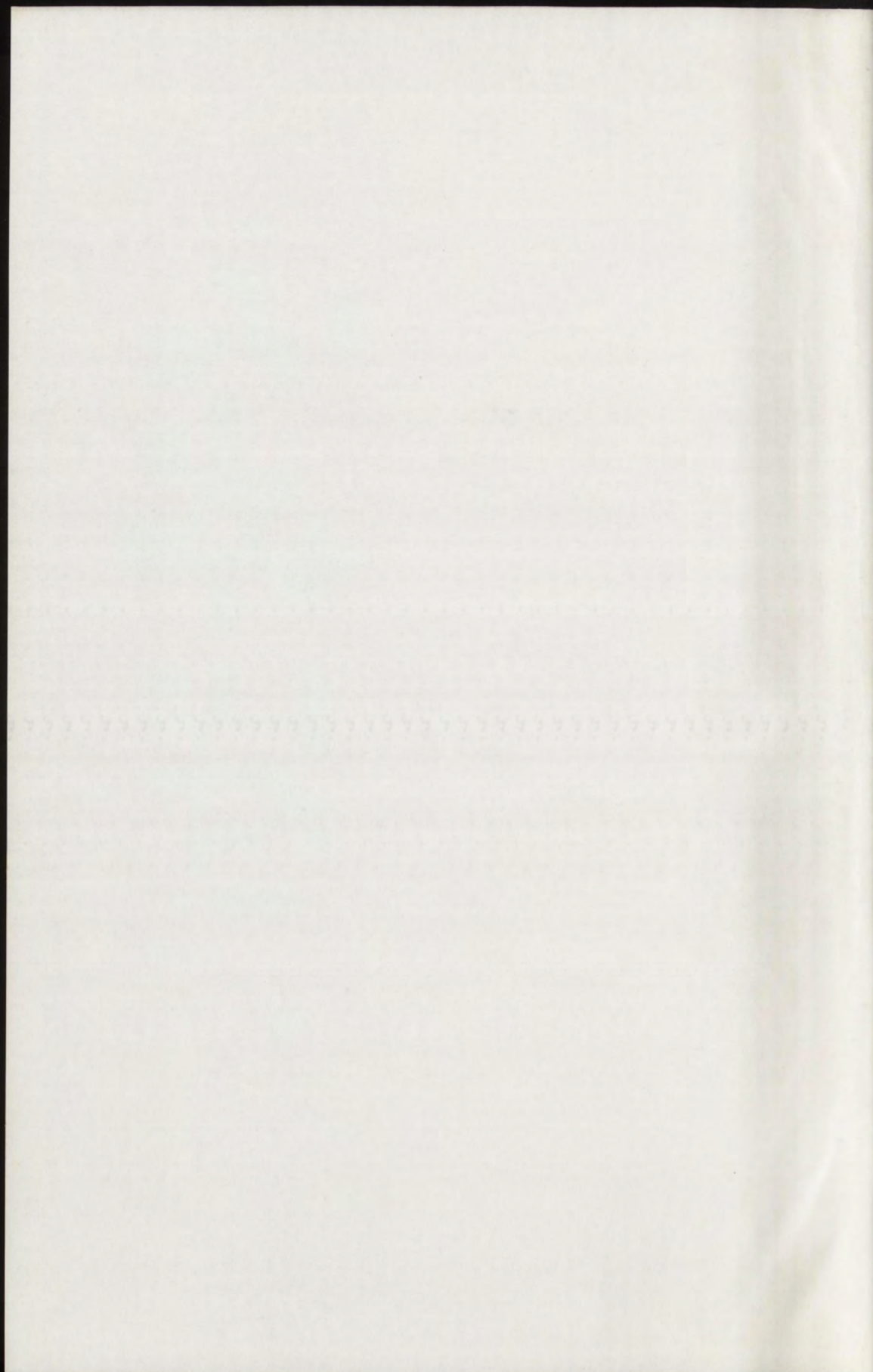


109326 B

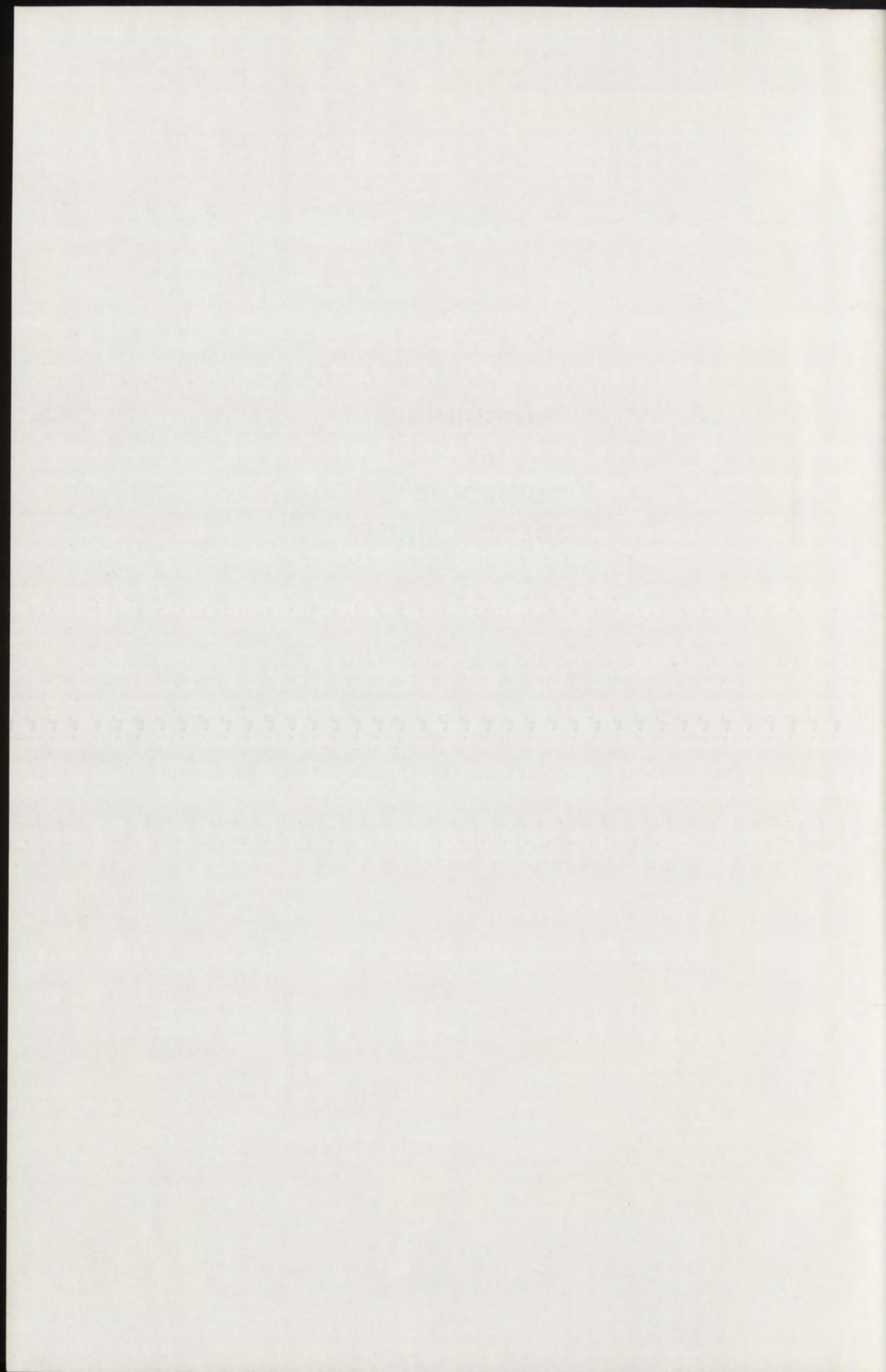


LABORATOIRE UNIVERSITAIRE DE
TRANSFUSION ET DE GROUPES SANGUINS
HOPITAL DE BAVIERE
66, Boulevard de la Constitution
LIÈGE

P. 3.139



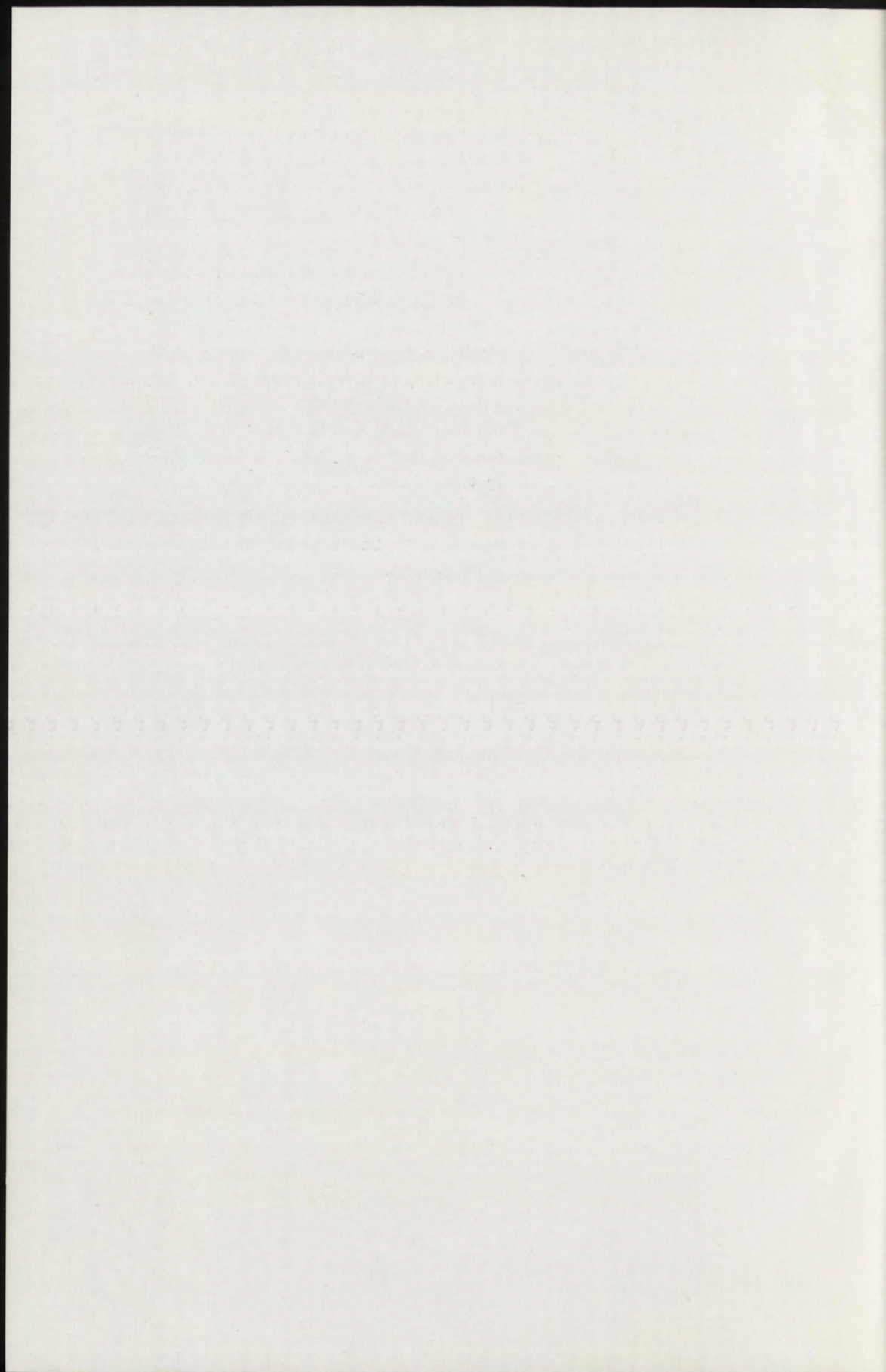
**BIOCHIMIE
ET
BIOLOGIE
MOLECULAIRE**



Les auteurs désirent exprimer à Madame Gh. Duchâteau-Bosson, Chef de travaux, leur vive gratitude pour la part qu'elle a prise à la mise au point du texte de cet ouvrage.

Ils adressent leurs remerciements à MM. A. D. Bangham, Ch. Bonnier, R. Bronchart, A. Claude, H. Fernandez-Moran, A. F. Huxley, H. E. Huxley, A. K. Kleinschmidt, R. M. Sandstedt, F. Sjöstrand, W. D. P. Stewart, T. E. Weier, qui ont bien voulu mettre à leur disposition des documents originaux reproduits dans le présent livre.

Ils sont reconnaissants au personnel de la S. A. Desoer pour sa diligente collaboration.



Florkin

109326B

QU4/FLO

MARCEL FLORKIN ET ERNEST SCHOFFENIELS

PROFESSEURS À L'UNIVERSITÉ DE LIÈGE

double

BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE



1966



DESOER

5781

05/11/10

10/11/10

10/11/10

10/11/10

10/11/10



INTRODUCTION

Astbury a défini la biologie moléculaire comme consistant dans la recherche, sous les aspects biologiques appréhendés à l'échelle des organismes, des correspondances de ces aspects qu'on peut saisir à l'échelle moléculaire. Pour lui, la biologie moléculaire est essentiellement tridimensionnelle et structurale, ce qui ne signifie pas qu'elle soit purement de l'ordre de la morphologie macromoléculaire. Elle doit aussi s'intéresser aux propriétés et à la genèse des macromolécules. Cette dernière préoccupation souligne combien il est malaisé de tracer la ligne de démarcation qui sépare la biologie moléculaire de la biochimie, comme aussi d'ailleurs de la cytochimie et de la génétique chimique. Les aspects de structure des macromolécules sont venus ajouter une dimension nouvelle aux aspects biochimiques, en fournissant d'autres relations, à l'échelle cellulaire, entre les aspects microscopiques et les structures macromoléculaires, comme aussi entre ces structures et le fonctionnement. Dans le présent exposé, ces aspects sont considérés sur le plan le plus général, c'est-à-dire sur celui de la vie cellulaire, et surtout dans les aspects de cette dernière qui, à l'échelle moléculaire, sont communs aux organismes ou qui conditionnent l'existence et le maintien de la biosphère.

Cette démarche, si elle laisse en dehors de son champ le problème majeur de l'évolution des êtres vivants, permet néanmoins de définir le schéma commun sur lequel est construite la diversité des organismes. Elle enrichit donc les bases physico-chimiques qui sous-tendent toutes les manifestations de cette diversité, et ouvre des voies nouvelles de son étude par la conjonction des aspects organismiques, les seuls qui déterminent les effets de la sélection naturelle, et des aspects moléculaires, qui sont les cibles des mécanismes d'information et par conséquent les seuls qui commandent la genèse des structures et des fonctions ainsi que l'apparition de nouvelles structures et de nouvelles fonctions.

Est-ce dire qu'au carrefour des études de biochimie, de biophysique et de biologie moléculaire, poursuivies à l'échelle moléculaire, nous trouvons cette définition de la vie que de si nombreux auteurs ont tenté de formuler ? Au moins pouvons-nous déjà constater que les cellules sont formées d'organites, constitués eux-mêmes de macromolécules spécifiques dont les structures tridimensionnelles, résultant de la réunion de monomères assemblés dans un certain ordre, sont elles-mêmes dans un certain ordre assemblées. Les cellules font la synthèse de ces macromolécules et



de leurs constituants selon des voies commandées par un système d'information résultant à la fois d'une transmission par la voie héréditaire et d'une série de relations avec le milieu de la cellule.

Pour accomplir ces biosynthèses comme pour alimenter les autres processus consommateurs d'énergie, les cellules recourent dans la plupart des cas à une catégorie particulière de « liaison riche », celle de l'acide adénosinetriphosphorique dont elles rétablissent constamment la concentration par l'intermédiaire de mécanismes très complexes utilisant des quanta d'énergie électronique. Ces mécanismes sont alimentés, soit par l'énergie solaire, grâce à laquelle une série d'organismes édifie leurs macromolécules spécifiques, soit par l'énergie chimique des monomères libérés à partir de macromolécules d'autres organismes.

Essentiellement, les mécanismes de l'utilisation des quanta d'énergie pour la synthèse d'ATP et pour celle des matériaux à potentiel chimique élevé, aussi bien que la biosynthèse des macromolécules selon une information spécifique, sont commandés par la mise en jeu de macromolécules, de sorte que si de nombreux aspects chimiques constituent des traits du tableau tracé ci-dessus, le déroulement des événements, comme la direction de ces derniers sont commandés par des structures macromoléculaires. Dans ce sens, il est bien vrai que la caractéristique la plus générale des cellules est d'être formées par l'association de macromolécules de structure définie. Nutrition, croissance, réponse aux actions extérieures et reproduction sont autant de caractères classiquement reconnus des êtres vivants. Tous ces caractères sont sous-tendus par des structures macromoléculaires aujourd'hui identifiées. Jusqu'à l'avènement de la mise à l'avant-plan des considérations relatives à la structure tridimensionnelle des macromolécules, et à l'ordre d'assemblage de leurs monomères, la biochimie a ignoré l'aspect le plus caractéristique de la nature des organismes et ce n'est nullement exagérer que d'admettre que la considération de cet aspect, c'est-à-dire le développement de la biologie moléculaire a fait faire à la biologie un bond en avant analogue à celui qui a suivi la publication du grand livre de Charles Darwin sur l'origine des espèces.

M. F.

E. S.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction

1. La biosphère et le continuum biochimique	1
2. Les méthodes de la biochimie moderne	7
3. Les principes généraux de l'énergétique biochimique . .	19
4. Energie des orbitales moléculaires	31
5. Hétérocycliques naturels	47
6. Les macromolécules et leurs constituants	77
7. La catalyse biochimique et les enzymes	153
8. Source d'énergie libre cellulaire : le potentiel de groupe et les phénomènes d'oxydo-réduction	187
9. La cellule	211
10. La membrane cellulaire et le réticulum endoplasmique . .	221
11. La glycolyse, le cycle des pentoses et la voie métabolique de l'acide glucuronique	273
12. La mitochondrie	295
13. La photosynthèse	353
14. Métabolisme des acides aminés et entrée de l'azote dans les composés organiques	369
15. Anabolisme primaire et anabolisme secondaire	425
16. DNA, RNA et synthèse protéique	475
17. Structure et propriétés de quelques protéines importantes	501
18. Contrôle et intégration des voies métaboliques	523
19. Métabolisme global et cycles de la biosphère	533
20. Index alphabétique des matières	555
21. Enzymes cités dans le texte	573

[The page contains extremely faint, illegible text, likely bleed-through from the reverse side. A prominent horizontal line of characters is visible across the middle of the page.]

CHAPITRE 1

La Biosphère et le continuum biochimique

I. Atmosphère, hydrosphère, lithosphère et biosphère	1
II. Les écosystèmes et le continuum biochimique	5

I. ATMOSPHERE, HYDROSPHERE, LITHOSPHERE ET BIOSPHERE

Le globe terrestre est entouré par une atmosphère constituée en majeure partie d'azote, d'oxygène et d'argon, mais contenant aussi d'autres éléments ou des composés tels que l'anhydride carbonique.

La distribution des molécules dans l'atmosphère présente un intérêt biochimique considérable. Rappelons qu'aux altitudes inférieures à 20 000 mètres, la composition moyenne indiquée dans le tableau 1-1 reste assurée par l'action des courants de convection, mais que si on s'élève à des altitudes plus grandes, on constate des séparations par sédimentation, dues aux poids moléculaires différents des gaz composant l'atmosphère. A partir de 150 000 mètres, cette séparation devient très marquée et progressivement l'atmosphère devient moins dense pour se confondre enfin avec le vide des espaces interplanétaires. La portion la plus voisine de la terre, la troposphère, dans laquelle les courants de convection assurent une composition moyenne à peu près constante, indiquée dans le tableau 1-1, est épaisse de 10 à 15 000 mètres suivant les saisons et suivant les latitudes. Au-dessus d'elle règne la stratosphère ainsi nommée parce que, faute de courants de convection, on y observe une stratification des différents gaz selon leur poids moléculaire et parce qu'il n'y a pas de

circulation importante des molécules dans le sens vertical, entre les couches ainsi formées. Alors que, dans la troposphère, la température diminue avec l'altitude, elle est indépendante de cette dernière dans la stratosphère.

Tableau 1-1
COMPOSITION MOYENNE DE LA TROPOSPHÈRE
(d'après Paneth, complété par Mason, 1952)

	Volumes (p. million)	Poids (p. million)	Masse totale en géogrammes (10 ²⁰ g)	Pression partielle (mm Hg)
N ₂	780 900	755 100	38.648	593.02
O ₂	209 500	231 500	11.841	159.52
A	9 300	12 800	0.655	7.144
CO ₂	300	460	0.0233	0.228
Ne	18	12.5	0.000636	
He	5.2	0.72	0.000037	
CH ₄	2.2	1.2	0.000062	
Kr	1.0	2.9	0.000146	
N ₂ O	1.0	1.5	0.000077	
H ₂	0.5	0.03	0.000002	
Xe	0.08	0.36	0.000018	
O ₃ (1)	0.01	0.36	0.000031	
				760.00

(1) Variable, croissant avec l'altitude.

Aux environs de 80 000 mètres, commence l'ionosphère, ainsi nommée parce qu'elle est rendue conductrice par l'effet des phénomènes d'ionisation dus aux radiations ultraviolettes venant du soleil. La présence d'anhydride carbonique dans la troposphère est, comme nous le verrons, très importante, malgré la faible concentration de ce gaz. Et la présence, dans la stratosphère, d'une couche diffuse d'ozone, l'ozonosphère, n'est pas moins importante, car elle empêche la majeure partie des rayons ultraviolets d'atteindre la surface de la terre, où ils mettraient fin à l'existence de la vie.

La terre est aussi entourée par une hydrosphère, couche discontinue d'eau, sous des formes physiques différentes, qui sépare la lithosphère de l'atmosphère et se prolonge au sein de cette dernière sous sa forme la moins dense, la vapeur d'eau.

L'hydrosphère est composée par les océans, les lacs, les fleuves, les rivières, les ruisseaux et l'eau qui imbibe plus ou moins les roches, comme aussi par les neiges et les glaces. Les océans recouvrent 70 % de la surface du globe, et leur profondeur moyenne est de 3 800 mètres, de sorte que la masse d'eau de mer représente approximativement 98 % de celle de l'hydrosphère. La composition de l'ensemble des substances dissoutes dans l'eau de mer est donnée dans le tableau 1-2.

Certains géochimistes pensent que l'hydrosphère resta peu profonde jusqu'à la fin du Paléozoïque, ce qui donnerait à l'océan tel que nous le connaissons aujourd'hui une histoire située dans des temps relativement récents. D'autres pensent que le volume des océans ne s'est pas beaucoup modifié depuis le Précambrien. Quoi qu'il en soit on s'accorde générale-

ment aujourd'hui pour considérer que les océans n'ont pas sensiblement changé de composition depuis l'Archéen.

On peut avec Conway (1943) considérer quatre hypothèses au sujet de l'évolution chimique des océans :

1. L'eau résulte de la condensation de la vapeur d'eau de l'atmosphère primitive tandis que les chlorures se sont ajoutés progressivement au cours des époques géologiques (volume constant, chlorures volcaniques).

Tableau 1-2
COMPOSITION DE L'EAU DE MER
mM p. litre (d'après Conway, 1943)

Na	478
K	10
Ca	11
Mg	55
Cl	559
SO ₄	29
HCO ₃	2
PO ₄	traces

GAZ DISSOUS DANS L'EAU DE MER (ml/l)
(d'après Mason, 1952)

Oxygène	0 - 9
Azote	8.4 - 14.5
CO ₂ total	34 - 56
Argon	0.2 - 0.4

2. Eau et chlorures résultant de la condensation initiale (volume constant, chlorures constants).

3. Eau et chlorures progressivement accumulés (océans d'origine volcanique, comme les chlorures).

4. Chlorures présents à l'origine (chlorures métalliques à la surface de la terre), eau ajoutée progressivement par suite de l'activité volcanique (océans volcaniques, chlorures constants).

C'est la troisième hypothèse qui jouit à l'heure actuelle de la faveur des géochimistes. Selon cette vue, la masse des substances dissoutes dans la mer résulte de l'érosion de la croûte terrestre. Cette masse de substances dissoutes est énorme. Elle formerait, si toute l'eau des océans était évaporée, une couche de sel épaisse de 153 m couvrant la surface totale des continents. Goldschmidt calcule que pour chaque litre d'eau de l'océan, 600 g de roches ignées ont été dissous. En d'autres termes, pour chaque cm² de la croûte terrestre, l'érosion génératrice des océans a soustrait 160 kilos de roches ignées. La plus grande partie de cette substance se retrouve dans les roches sédimentaires.

La biosphère est chronologiquement postérieure à la lithosphère, à l'hydrosphère et à l'atmosphère. Si elle occupe des portions de ces trois régions, elle y est discontinue et **constituée par la masse globale des organismes**. Cette définition, proposée par Lamarck, associée à la prise en

considération de la nature vivante de la biosphère, celle de sa localisation et de son caractère discontinu. La masse de la biosphère est beaucoup moindre que celles de l'hydrosphère et de l'atmosphère. Selon Rankama et Sahama (1950), les poids relatifs se chiffrent approximativement comme suit :

Hydrosphère	69 100
Atmosphère	300
Biosphère	1

Mais si la biosphère est quantitativement insignifiante, elle est le siège d'une activité chimique considérable et on peut calculer qu'elle a, au cours des derniers 500 millions d'années, c'est-à-dire depuis l'apparition des Trilobites, « métabolisé » une masse comparable à la masse totale du globe terrestre.

On peut se faire une idée de la masse de la biosphère en calculant la production annuelle de carbone organique par km². Riley arrive à environ 160 tonnes/km² en moyenne pour les milieux terrestres et à 340 tonnes par km² pour les océans. La production annuelle totale des continents est de $20 \pm 5 \times 10^9$ tonnes et celle des océans, de $126 \pm 82 \times 10^9$ tonnes, soit pour l'ensemble de la terre, $146 \pm 83 \times 10^9$ tonnes.

Les éléments chimiques prédominants de la biosphère sont l'hydrogène, le carbone, l'azote, l'oxygène et le phosphore. En outre les éléments toujours présents à une concentration de 0.05 à 1 % sont le sodium, le magnésium, le calcium et le potassium, le chlore, le soufre et le fer. D'autres encore, bien qu'en quantités moindres, sont cependant aussi toujours présents à des concentrations mesurables : bore, aluminium, cuivre, zinc, silicium, gallium, molybdène, manganèse, cobalt et iode. De manière inconstante, on trouve aussi d'autres éléments.

Les éléments constants de la biosphère sont situés, sauf l'iode, dans les quatre premières périodes du système périodique. Ce sont des éléments légers. Or, la biosphère est constituée d'eau pour une forte proportion. Il est naturel que ce soient les éléments les plus communs à la surface de la terre et ceux dont les dérivés sont les plus solubles qui soient présents dans les organismes.

On peut dire, pour caractériser les relations quantitatives des divers éléments entrant dans la composition des êtres vivants, que si on additionne les onze métaux et métalloïdes suivants :

Carbone	Soufre	Calcium
Hydrogène	Phosphore	Magnésium
Oxygène	Chlore	Potassium
Azote		Sodium

on obtient la presque totalité de la masse de l'organisme : 99.9 % chez l'homme. C'est une façon de dire qu'un organisme est pour sa plus grande masse, constitué par de l'eau, des lipides, des glucides et des protides et par des chlorures, bicarbonates, phosphates et sulfates de sodium, de potassium, de calcium et de magnésium. Les éléments constituant ces substances sont des éléments légers et, comme nous l'avons dit, les plus communs à la surface de la lithosphère et de l'hydrosphère.

En ce qui concerne les éléments de la minorité, on doit être prudent lorsqu'il s'agit de limiter leur liste. Il suffit d'admettre la présence d'un atome par cellule pour assigner une éventuelle activité à un oligoélément. Au fur et à mesure du perfectionnement des méthodes, le nombre des oligoéléments s'accroît. Au fur et à mesure que notre connaissance de la biochimie s'étend, le nombre des oligoéléments auxquels on reconnaît une fonction déterminée augmente aussi. C'est une raison pour professer à l'égard de la notion restrictive d'élément biogénique une prudente défiance.

Lithosphère, hydrosphère et biosphère sont constitués, qualitativement, par les mêmes éléments et ne diffèrent que par les proportions relatives de ces derniers.

II. LES ÉCOSYSTÈMES ET LE CONTINUUM BIOCHIMIQUE

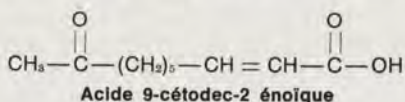
Le terme de biosphère que nous avons adopté, après Lamarck, comme définissant la somme globale de la matière des êtres vivants, signifie souvent, dans le langage courant, non seulement l'ensemble des êtres vivants, mais en outre les portions de l'écorce terrestre, de son hydrosphère et de son atmosphère servant de milieu à la vie. Le concept, de biologique, est devenu géochimique et désigne alors ce que nous préférons nommer « l'ensemble des écosystèmes ». Dans une perspective à la fois écologique et biochimique, on peut aussi considérer ce que nous conviendrons d'appeler le continuum biochimique, formé par la masse des êtres vivants (biosphère) et par les extensions métaboliques de cette biosphère. L'oxygène de l'atmosphère résulte de l'activité métabolique des végétaux. Les molécules organiques tapissant la surface des grains de boue ou de sable déposés dans les sédiments, sont reliées à la surface des océans par un nuage de molécules et de macromolécules organiques de densité variable en ses différents points. La même notion de continuum biochimique s'applique aux sols, aux eaux douces et même aux roches sédimentaires. L'ensemble du continuum biochimique englobant la biosphère qui en représente une région particulière, constitue une population moléculaire dont les membres sont rapprochés dans certaines régions et plus écartés dans d'autres régions. Au sein de la portion du continuum biochimique correspondant à la biosphère, les groupements moléculaires sont architecturés sous la forme de cellules au sein desquelles la population moléculaire est maintenue dans un état éloigné de l'état d'équilibre physico-chimique par la réalisation d'un système ouvert, et au sein desquelles règne un mécanisme de reproduction et de transfert héréditaire d'information.

Des organismes pluricellulaires résultant de l'association de telles cellules, et des organismes unicellulaires, se groupent d'autre part en communautés dont les populations se maintiennent et forment, en association avec divers composants du milieu, des écosystèmes entre lesquels s'opèrent des courants de matière et d'énergie. Sans vouloir nullement prétendre que l'écologie soit uniquement dominée par des actions chimiques, on peut dire que ces dernières y exercent un rôle souvent important. Certains phénomènes écologiques apparaissent comme soumis à l'influence exercée sur des organismes déterminés, par des facteurs molé-

culaires libérés au sein du milieu par d'autres organismes déterminés. Certains phénomènes éthologiques sont également régis par des facteurs de cette nature, comme aussi par des molécules maintenues au sein de leur organisme formateur et relevant des systèmes de biosynthèses qu'on appelle souvent « secondaires ». La nature et l'économie d'un écosystème dépendent d'une série d'informations contrôlant le métabolisme et la persistance dans un milieu déterminé, d'une communauté biotique déterminée. Certaines de ces informations viennent des aspects physiques du milieu. Toutefois, dans le réseau du continuum biochimique s'opère une circulation de molécules spécifiques ou de macromolécules porteuses d'une certaine quantité d'informations.

De nombreuses observations ont par exemple montré la nécessité, pour le développement normal du phytoplancton marin, de la présence de molécules organiques dissoutes dans l'eau de mer et libérées à partir d'autres organismes. L'un des facteurs contrôlant le développement des algues apparaît comme étant la vitamine B₁₂. Les algues, comme aussi les dinoflagellés planctoniques et les diatomées, libèrent d'autre part des substances pourvues de propriétés inhibitrices de la croissance des bactéries, lesquelles constituent une portion non négligeable de la nourriture des invertébrés marins (1 à 10 p. 100 de l'exigence en azote de la faune des sédiments par exemple). Le zooplancton marin, de son côté, s'accumule dans les zones au niveau desquelles la « floraison » du phytoplancton décline après avoir atteint un développement maximum. Au niveau de ces zones, la libération de molécules organiques d'antibiotiques par le phytoplancton diminue, le résultat étant une multiplication des bactéries consommées par le zooplancton, ce qui lui fournit un surplus d'aliments et de vitamines.

Les molécules organiques libérées par des organismes peuvent exercer un effet sur les individus de la même espèce (phéromones). La substance sécrétée par la reine des abeilles, et que les ouvrières viennent lécher à la surface de son corps, appartient à cette catégorie. Sa nature chimique a été déterminée : c'est un céto-acide non saturé ayant la formule suivante :



L'information que cette molécule porte au niveau de la colonie est celle de la présence de la reine. Elle produit l'atrophie des ovaires des ouvrières et les maintient dans leur condition au sein de la société des abeilles.

A CONSULTER

- CONWAY, E. J. The chemical evolution of the Ocean. *Proc. Roy. Irish Acad. (B)*, 1943, **48**, 161.
 FLORKIN, M. Aspects moléculaires de l'adaptation et de la phylogénie. Masson, Paris, 1966.
 MASON, B. Principles of geochemistry. Wiley, New York, 1952.

CHAPITRE 2

Les méthodes de la Biochimie moderne

I. Etude de l'organisme entier et normal	7
II. Méthodes recourant à la chirurgie expérimentale	9
III. Organes isolés	9
IV. Préparations réalisées à partir de tissus : de la coupe mince à l'enzyme cristallisé	10
V. L'expérimentation au moyen des isotopes	12
VI. Génétique et métabolisme intermédiaire	16
VII. Distinction entre précurseur possible et précurseur obligatoire	17

I. ÉTUDE DE L'ORGANISME ENTIER ET NORMAL

Beaucoup de recherches métaboliques ont porté sur l'organisme entier, avec un minimum de lésion. C'est par exemple le cas lorsqu'on ajoute l'un ou l'autre composé à la nourriture d'un organisme et lorsqu'on fait la recherche, dans les excréta, de cette substance ou de ses produits de transformation.

Un exemple d'information importante recueillie par cette méthode non destructive est la démonstration, chez l'animal adulte, de l'équilibre azoté, dans les classiques expériences de Bischoff et Voit sur le chien. Si on

donne à un chien adulte de la viande en quantités connues pendant un certain nombre de jours et si on mesure pendant la même période l'excrétion d'azote, on constate que l'organisme ne retient pas l'azote. L'azote excrété correspond à l'azote ingéré : on dit que l'animal est en équilibre azoté.

Si au cours de son passage dans l'organisme, une substance introduite finit par fournir un terme défini du catabolisme, ce terme pourra être identifié parmi les excréta. Si on fait ingérer à un mammifère de la méthionine, par exemple, on observe un accroissement de l'excrétion de soufre par l'urine. On en conclut que la méthionine a été, en partie au moins, dégradée, et que le soufre a été oxydé pour donner du sulfate. Au début du siècle dernier, Wöhler avait exprimé l'opinion selon laquelle l'acide benzoïque introduit dans l'organisme se retrouvait dans l'urine. Cependant la description qu'il donnait de l'acide isolé de l'urine fut reconnue comme correspondant à l'acide hippurique quand cet acide fut distingué de l'acide benzoïque par Liebig en 1829. Chez l'homme, l'acide phénylacétique ingéré est excrété sous la forme de phénylacétylglutamine.

Toutefois, si la méthode en question a été beaucoup utilisée dans l'étude des phénomènes de détoxication, elle est peu utile dans le grand nombre de processus métaboliques au cours desquels une molécule organique fournit du CO_2 et de l'eau. Plusieurs procédés ont été utilisés pour identifier les termes intermédiaires par l'expérimentation sur l'organisme entier. On peut évidemment introduire les substances considérées comme susceptibles d'être des intermédiaires et vérifier si elles fournissent le même produit final dans les excréta. Mais on peut tenter aussi d'identifier, dans l'organisme étudié, des termes intermédiaires du catabolisme d'un composé introduit. Quand Harden et Young étudièrent en 1905 le mode d'action d'un jus de levure sur le glucose, ils observèrent, comme Büchner l'avait fait avant eux, que si on ajoute du phosphate à du jus de levure, en présence de glucose, la production du CO_2 était accrue. Après une augmentation temporaire, l'effet s'atténue pour reprendre si on ajoute de nouveau du phosphate. Les additions successives de phosphate ont pour conséquence une production d'une mole de CO_2 par mole de phosphate ajoutée. D'autre part, recherchant le phosphate qu'ils avaient ajouté, Harden et Young virent qu'il n'était plus sous la forme libre, mais qu'il était combiné sous la forme d'esters phosphoriques. Ils isolèrent le fructofurannose-1,6-PP (ester de Harden et Young). Un autre exemple, dans le cas du même métabolisme intermédiaire, est fourni par l'observation de Neuberg qui montra, en 1918, que si on ajoute du bisulfite sodique (NaHSO_3) à un jus fermentant, on précipite du bisulfite d'acétaldéhyde, ce qui suggéra que l'acétaldéhyde est un précurseur de l'éthanol dans la fermentation alcoolique. Par l'addition de diverses substances agissant comme des inhibiteurs, on peut provoquer l'accumulation d'un terme intermédiaire. Si par exemple, on ajoute du fluorure à un jus fermentant, on observe une accumulation d'acide 3-phosphoglycérique, reconnu ainsi comme un intermédiaire dans la glycolyse. Dans le domaine de l'anabolisme, on peut recourir à l'analyse d'un organe après introduction du précurseur envisagé. Si on veut déterminer la possibilité de la synthèse de glycogène à partir de tel ou tel précurseur, on peut mettre au jeûne deux lots de rats jusqu'à ce qu'ils aient dégarni leurs réserves de glycogène et administrer aux animaux de l'un des lots le précurseur envisagé. Sacrifiant ensuite les deux lots et

déterminant chez les animaux la teneur en glycogène du foie et des muscles, on peut reconnaître la synthèse du glycogène.

Toutes ces formes d'approche du métabolisme sont cependant sujettes à des erreurs. Si un corps considéré comme le terme d'un catabolisme est isolé de l'urine ou des fèces, il peut y être le résultat d'une action bactérienne. Si d'autre part un précurseur donne plusieurs produits de dégradation et si l'un d'entre eux seulement est excrété sans modification, les autres resteront ignorés. Même si on va prélever le terme d'une biosynthèse au lieu de son accumulation dans l'organisme, on peut se méprendre sur la nature de l'anabolisme. Un exemple frappant peut être tiré du domaine de la biosynthèse des acides biliaires. On pourrait croire que si on prélève la bile dans la vésicule biliaire d'un vertébré, on saisit le terme des biosynthèses accomplies au niveau des cellules du parenchyme hépatique à partir du cholestérol, évitant ainsi les modifications dont les acides biliaires sont le siège au cours de leur passage dans le tube digestif. Dans un certain nombre de cas, on se leurre néanmoins. C'est ainsi que l'acide désoxycholique qu'on trouve dans la bile du lapin et de l'homme n'est pas un terme de biosynthèse hépatique, mais un produit de transformation de l'acide cholique, au niveau de l'intestin, sous l'action des bactéries. L'acide désoxycholique ainsi formé est réabsorbé et excrété dans la bile.

II. MÉTHODES RECOURANT À LA CHIRURGIE EXPÉRIMENTALE

L'organisme d'un mammifère peut être soumis à une intervention expérimentale, comme, par exemple, l'ablation d'un organe. Alors que le mammifère normal convertit en urée l'azote des acides aminés, ce n'est plus le cas chez l'animal privé de foie. Chez lui, les acides aminés et l'ammoniaque s'accumulent dans le sang. D'autre part, l'urée formée lorsque le foie est présent est éliminée par le rein et c'est elle qui s'accumulera dans le sang si on a enlevé le rein.

De la même technique relèvent les procédés dans lesquels une substance est injectée dans l'artère qui amène le sang à un organe, le sang afférent de ce dernier étant ponctionné en vue des analyses.

III. ORGANES ISOLÉS

La technique des organes isolés est apparentée à celle qui vient d'être mentionnée, avec une nuance, le sang étant remplacé parfois par le liquide de perfusion.

On a élevé diverses objections contre cette méthode. On lui a reproché d'exposer les cellules de l'organe à une anoxémie qui peut les modifier. D'autre part, si la perfusion se fait au moyen d'une solution saline, l'organe est soustrait aux actions nerveuses hormonales et autres auxquelles il est soumis *in situ*. Certaines parties de l'organe peuvent ne pas être irriguées,

et par conséquent être dans un état pathologique entraînant des modifications du métabolisme. Néanmoins la méthode a fourni d'importants résultats.

L'introduction d'ammoniaque dans le liquide de perfusion d'un foie isolé de chien a, par exemple, pour conséquence, l'apparition d'urée dans le liquide efférent. La même expérience accomplie avec un foie isolé d'oie montre l'apparition d'acide urique. La méthode a trouvé, chez d'habiles expérimentateurs, une nouvelle vogue dans le cas des études sur le métabolisme des acides aminés et des stéroïdes, parce qu'elle permet de définir les modifications qui interviennent au niveau du foie et de les distinguer de celles qui ont pour siège le rein ou d'autres organes.

C'est grâce aux études accomplies sur la peau de grenouille qu'une définition non ambiguë du transport actif a pu être formulée. Si une peau de grenouille sépare deux solutions salines de composition identique, on peut mettre en évidence, à l'aide de sodium radioactif, l'existence d'un flux net de Na, de la solution en contact avec la face externe (épithéliale) à la solution en contact avec la face interne (tissu conjonctif). Ce déplacement s'accomplit non seulement en l'absence de tout gradient de potentiel chimique, puisque les solutions ont la même composition ionique, mais aussi à l'encontre d'un gradient de potentiel électrique puisque la solution baignant la face interne de la peau est électropositive par rapport à la solution baignant la face externe. Conformément à la deuxième loi de la thermodynamique, l'énergie métabolique doit être fournie à un système biochimique particulier directement responsable du transfert ionique observé. Le concept de transport actif ainsi défini a été appliqué avec succès à l'étude des déplacements de nombreuses substances à travers les membranes cellulaires. Il a permis de préciser, dans la plupart des cas considérés, la nature des déplacements.

Un autre aspect important des études métaboliques sur les organes isolés est fourni par la considération des relations énergétiques du transport actif. L'axone géant du calmar s'est révélé, dans les mains d'Hodgkin et de ses collaborateurs, comme un matériel de choix.

Des études de l'école de Cambridge s'est dégagée la notion de spécificités de certains composés phosphorylés en tant que sources d'énergie du transport actif, ces résultats ont été complétés par les travaux de Skou démontrant la présence d'une activité adénosine-triphosphatasique spécifique dans la plupart des organes qui sont le siège d'un transport actif.

IV. PRÉPARATIONS RÉALISÉES À PARTIR DE TISSUS : DE LA COUPE MINCE À L'ENZYME CRISTALLISÉ

Plus destructrice encore que l'isolement d'un organe est le fait de le débiter en coupes minces qui, préparées dans des conditions convenables et maintenues dans un liquide adéquat, peuvent survivre pendant plusieurs heures, leurs cellules continuant à mener une vie normale. La pression d'oxygène doit être suffisante pour alimenter les cellules. Si le milieu est tamponné et si la coupe est assez mince (0.3 mm env.) le procédé peut être

utilisé avec profit. Grâce à la méthode manométrique mise au point par Warburg, les coupes de tissus ont fourni beaucoup de données importantes. La méthode est surtout employée pour mesurer le métabolisme global, mais elle a été aussi à maintes reprises utilisée dans l'étude des métabolismes intermédiaires. On peut, au moyen de cette méthode, étudier la désamination des acides aminés en présence de coupes de tissu hépatique, et la formation de l'urée. On peut aussi étudier le métabolisme des acides cétoniques résultant de la désamination des acides aminés, etc.

Les études réalisées sur les cellules isolées ou sur leurs prolongements (nerfs, axones, etc.) s'apparentent à la technique des coupes minces. La méthode généralement utilisée consiste à saisir par une technique adéquate l'évolution d'un paramètre reflétant un aspect particulier du métabolisme : production de chaleur au cours de l'activité électrique du nerf, flux ioniques et potentiels électriques de l'électroplaque isolée d'*Electrophorus electricus* L., (gymnote), etc.

L'étape suivante dans l'ordre des destructions croissantes est l'emploi de pâtes, de broyats ou d'homogénats de tissus. Les cellules, ici, sont détruites mais leurs organites sont plus ou moins préservés. On peut même éventuellement les isoler. Les homogénats et ces organites isolés ont été utilisés dans les recherches relatives aux séquences métaboliques, dans des systèmes multienzymatiques. On a surtout étudié au moyen d'homogénats l'existence de tel ou tel enzyme spécifique, et les facteurs régulateurs déterminant quelle séquence se déroule quand plusieurs doivent être considérées comme possibles.

Quant aux recherches portant sur des organites intracellulaires, les résultats obtenus, en particulier par les écoles de Chance, de Green ou de Slater, ont permis de mettre expérimentalement en évidence l'organisation spatiale des systèmes plurienzymatiques en suivant à l'aide de techniques appropriées l'évolution de la concentration d'un substrat ou d'un coenzyme dans diverses conditions expérimentales.

Toutefois, si utiles et si instructives qu'aient pu être toutes les méthodes destructives mentionnées ci-dessus, seules les données recueillies au moyen d'enzymes purifiés ont pu fournir des précisions sur le cours du métabolisme. Si les informations ainsi obtenues sont nettes et précises, elles sont toutefois aussi à la limite extrême du caractère destructeur des méthodes, et la reconstitution des séquences complexes du catabolisme et de l'anabolisme à partir de pareilles données pourrait apparaître, et est en fait apparue à certains esprits, comme une entreprise hasardeuse. Alors que l'enzymologie se développait, la biochimie se dégageait progressivement des entraves que lui imposaient les vues des chimistes d'une part, et celles des physiologistes d'autre part. Prenant librement conscience de son problème propre, la biochimie s'engageait dans tous les chemins de nature à mener à sa solution, faisant éclater les compartiments dans lesquels aurait pu la confiner une désuète classification des sciences. Recourant aux découvertes de la physique et de la génétique, les biochimistes, associant aux certitudes apportées par l'usage des enzymes purifiés, les indications fournies par le recours aux isotopes, aux études relatives aux déviations génétiques du métabolisme et aux formes mutantes de microorganismes, joignaient de nouvelles méthodes non destructives aux méthodes destructives extrêmes de l'enzymologie. C'est grâce à cette

conjonction d'ingéniosité et de patience que de nombreux problèmes métaboliques ont pu être résolus.

V. L'EXPÉRIMENTATION AU MOYEN DES ISOTOPES

Grâce aux isotopes, il est possible de marquer une molécule en un point ou en des points précis et de suivre la destinée des éléments marqués. Dès qu'on a pu disposer d'isotopes des éléments les plus répandus dans les organismes : hydrogène, carbone, azote, oxygène, phosphore, soufre, métaux alcalins et alcalino-terreux, la méthode est devenue très féconde.

La plupart des éléments ont plusieurs **isotopes**. Tous les isotopes d'un même élément ont les mêmes propriétés chimiques mais des poids atomiques différents. Le poids atomique d'un élément est approximativement égal à la somme des neutrons plus le nombre des protons du noyau (nombre de masse). Par contre, les propriétés chimiques sont déterminées par le nombre de protons, c'est-à-dire le nombre atomique, dont dépend le nombre d'électrons.

Comme le nombre atomique de tous les isotopes d'un même élément ne varie pas, très souvent on ne désigne un isotope particulier qu'à l'aide de son nombre de masse.

Par exemple, un isotope du carbone possède six protons et huit neutrons. Le proton possède une masse égale à l'unité et une charge électrique positive. Le neutron a une masse égale à l'unité et sa charge électrique est nulle. Puisqu'il y a six protons dans le noyau on trouve six électrons qui sont responsables des propriétés chimiques de l'élément considéré. On dira que l'isotope est le carbone 14 (nombre de masse : six protons + huit neutrons) et on écrira $^{14}\text{C}_6$.

Les autres isotopes du carbone possèdent cinq, six ou sept neutrons ; on parlera donc de carbone 11, 12 ou 13 respectivement.

Puisque dans le cas des isotopes d'un élément le nombre de protons ne varie pas, il est clair que tous les isotopes d'un même élément ont des propriétés chimiques identiques. Toutefois s'il existe des différences importantes dans les nombres de masse, on peut observer certaines différences dans les vitesses de réaction (effet isotopique).

C'est ainsi que dans le cas de l'hydrogène on distingue trois isotopes, protium ($^1\text{H}_1$), deutérium ($^2\text{H}_1$), et tritium ($^3\text{H}_1$).

Il est clair que le poids atomique du tritium est trois fois plus élevé que celui du protium, l'hydrogène ordinaire, alors que dans le cas du sodium 24, son nombre de masse est très voisin de celui du mélange isotopique rencontré dans la nature (22.997). L'effet isotopique sera donc négligeable dans le cas du sodium 24, alors qu'il devra, dans certaines circonstances particulières, être pris en considération si on utilise le tritium par exemple.

Certains isotopes sont présents dans la nature. On peut donc les concentrer à partir de sources naturelles. Les plus importants, en ce qui concerne les études relatives aux métabolismes intermédiaires sont $^2\text{H}_1$, $^{13}\text{C}_6$, $^{15}\text{N}_7$ et $^{18}\text{O}_8$.

Dans la nature, ces isotopes existent, par rapport à la plus grande masse de l'élément correspondant, dans les proportions suivantes :

$$\begin{aligned} {}^1\text{H}/{}^2\text{H} &= 99.98/0.02 \\ {}^{14}\text{N}/{}^{15}\text{N} &= 99.63/0.37 \\ {}^{12}\text{C}/{}^{13}\text{C} &= 98.9/1.1 \\ {}^{16}\text{O}/{}^{18}\text{O} &= 99.8/0.2 \end{aligned}$$

Ces isotopes sont dits stables. D'autres isotopes naturels sont radioactifs, c'est-à-dire qu'ils subissent, après une durée variable, une transmutation accompagnée d'une émission de particules. Il s'agit soit d'une particule α (un noyau d'hélium), soit de particules β négatives ou positives. De plus certains isotopes radioactifs naturels émettent également des rayons γ , de nature électromagnétique et hautement énergétique (photons). Les isotopes radioactifs naturels les plus généralement utilisés en biologie sont le tritium ${}^3\text{H}$ et le carbone 14.

On peut aussi préparer des isotopes artificiels lors du bombardement d'un élément au moyen de protons, de neutrons, de deutérons, de particules α ou de rayons γ . Les isotopes obtenus sont radioactifs. Ils émettent très souvent des particules β positives ou négatives ainsi que des rayons γ .

Les éléments radioactifs subissent une continuelle désintégration. La probabilité pour qu'un atome donné subisse la transmutation est une affaire de hasard : c'est un phénomène statistique.

Le nombre de désintégrations par unité de temps est proportionnel au nombre d'atomes radioactifs présents. On peut donc écrire :

$$\frac{dN}{dt} = -\lambda N \quad (2-1)$$

où N est le nombre d'atomes présents, t le temps et λ une constante caractéristique de l'isotope.

En intégrant on obtient :

$$N = N_0 e^{-\lambda t} \quad (2-2)$$

où N_0 est le nombre d'atomes radioactifs présents au temps 0.

Selon l'isotope considéré une fraction constante de la population d'atomes subit, au cours d'un temps donné, la dégradation. L'éq. (2-2) peut par exemple être résolue pour un temps τ au cours duquel la valeur de N passe d'une valeur à une valeur moitié moindre. Dans ces conditions :

$$\tau = \frac{\ln 2}{\lambda} \quad (2-3)$$

Le temps τ est appelé la période ou demi-vie de l'isotope et tout comme la constante radioactive λ , le type de rayonnement émis, etc., il s'agit d'une caractéristique importante de l'isotope.

Pour qu'un isotope soit utilisable, il faut que la valeur de τ soit située dans des limites raisonnables. Si elle est de l'ordre de la seconde, il est

évident que l'isotope sera inutilisable en biologie. Par contre, si elle est trop élevée le nombre de désintégrations par seconde deviendra trop faible pour pouvoir être mis en évidence par les moyens de détection dont nous disposons actuellement. Dans le cas du carbone 14 la demi-vie est de 5 700 ans ; elle est proche de la limite supérieure utile.

La mise en évidence d'un isotope repose sur l'identification de certaines de ses caractéristiques. Dans le cas des isotopes stables (τ infiniment grand) seule la différence existant entre les nombres de masse peut être mise à profit. Dans ces conditions, on utilise un appareil, le spectromètre de masse, qui permet de mesurer l'abondance relative d'une espèce isotopique.

Dans ce genre d'analyse, le matériel est transformé en gaz. Il est admis sous faible pression dans une région où il est bombardé à l'aide d'électrons. Le résultat est la formation d'ions positifs par enlèvement d'un électron de valence. Les ions positifs sont alors accélérés dans un champ électrique. Comme la vitesse acquise est différente pour chaque isotope, on sépare les différents ions positifs d'après leur vitesse en déformant leur trajectoire dans un champ magnétique.

Dans le cas des isotopes radioactifs, on les détecte grâce aux particules ou au rayonnement qu'ils émettent.

Dans le compteur de Geiger-Mueller on met à profit le fait que les particules sont ionisantes. Il s'agit d'un tube fermé comprenant un fil central et un cylindre externe entre lesquels on produit une différence de potentiel. La particule ionisante en pénétrant dans le volume sensible produit une chaîne d'ionisation dans le gaz remplissant le tube avec pour conséquence la formation d'une impulsion électrique résultant de la chute de potentiel électrique. Un système électronique adéquat permet d'enregistrer les impulsions électriques dont le nombre est évidemment proportionnel à la radioactivité de la source étudiée.

Un autre type de détecteur est basé sur le fait que les radiations ionisantes produisent un phénomène de luminescence lorsqu'elles frappent certains cristaux ou certaines substances en solution. La scintillation est proportionnelle à l'énergie perdue par la particule, et elle est détectée à l'aide de photomultiplicateurs. Les compteurs à scintillation permettent d'établir le spectre du rayonnement γ émis ou dans le cas d'un émetteur β de déterminer l'énergie maximum qui est caractéristique d'un isotope donné.

L'activité d'un échantillon de matériel radioactif est généralement exprimée en nombre de coups ou désintégrations par seconde. Toutefois comme le rayonnement émis est selon sa nature et son énergie plus ou moins absorbé par la matière séparant la source du détecteur, on doit déterminer l'efficacité du système de comptage si on désire connaître en valeur absolue la radioactivité présente. En pratique courante, cette correction n'est pas nécessaire et on utilise les valeurs relatives.

Dans le cas du radium, on sait qu'un gramme de matériel produit en valeur absolue $3.7 \cdot 10^{10}$ désintégrations par seconde. C'est l'unité fondamentale de mesure. On l'appelle le curie (C). Ses sous-multiples sont le millicurie (mC) et le microcurie (μ C).

Le nombre d'atomes radioactifs présents dans un curie est évidemment en rapport avec la période comme l'indiquent les équations (2-2) et (2-3).

Dans un curie on a :

$$\frac{dN}{dt} = 3.7 \cdot 10^{10} = - \frac{\ln 2}{\tau} N \quad (2-4)$$

qui peut s'écrire :

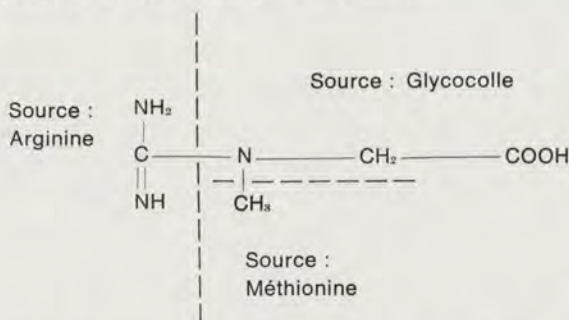
$$N = - \frac{\tau}{\ln 2} 3.7 \cdot 10^{10} \text{ atomes.} \quad (2-5)$$

Le recours à la méthode des traceurs isotopiques, et en particulier les procédés mettant en jeu les isotopes radioactifs reposent sur une série de principes généraux relatifs au métabolisme de l'organisme. Les substances organiques entrant dans la composition de ce dernier sont constamment dégradées et reconstituées, la reconstitution s'alimentant à un « pool métabolique » au sein duquel se mêlent les précurseurs venant de l'alimentation et ceux que fournit la dégradation continue. Si on introduit sous la forme d'une molécule marquée en un point défini par un isotope radioactif, par exemple, un composé utilisé dans une synthèse, cette molécule sera insérée dans le pool métabolique alimentant cette synthèse. Les composés synthétisés seront eux-mêmes marqués et on pourra déterminer, dans le cas d'un composé résultant d'une biosynthèse, après avoir isolé et purifié ce composé, le rapport de la forme radioactive à la forme stable. C'est ce qu'on appelle l'activité spécifique.

Les mesures étant accomplies au moyen d'un système de détection adéquat, l'activité spécifique sera exprimée en valeur relative, c'est-à-dire en coups ou en désintégrations par minute par millimole (ou par milligramme du composé). L'activité spécifique pourra aussi être exprimée en valeur absolue, l'unité de radioactivité employée étant alors le curie ou ses sous-multiples.

Un exemple de l'emploi de la méthode des isotopes stables est fourni par l'étude réalisée par Schoenheimer et Rittenberg de certains aspects de la synthèse du cholestérol à partir de l'eau lourde. Cette étude est particulièrement importante puisque, historiquement, elle constitue la première utilisation d'un isotope d'un élément présent dans les organismes.

Un autre exemple de l'emploi de la méthode des isotopes stables est fourni par l'étude de la synthèse de la créatine.



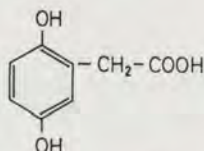
L'école de du Vigneaud a montré que si on donne à un rat de l'arginine contenant ¹⁵N dans son groupement amidine, la créatine formée est marquée au niveau du groupe amidine seulement, tandis que l'administration

de glyocolle marqué au moyen de ^{15}N donne de la créatine marquée au niveau du groupe sarcosine. D'autre part, l'administration de méthionine marquée au moyen de deutérium au niveau de son groupe méthyle fournit de la créatine marquée au niveau du méthyle. Les sources de la biosynthèse sont indiquées dans le schéma ci-dessus.

VI. GÉNÉTIQUE ET MÉTABOLISME INTERMÉDIAIRE

L'existence des enzymes catalysant les diverses étapes d'un métabolisme intermédiaire est commandée par celle des gènes contrôlant leur biosynthèse. A la suite d'une mutation, il peut se faire qu'une étape métabolique ne s'accomplisse pas ; c'est le résultat de la perte du catalyseur correspondant. Le métabolite précédant l'enzyme perdu s'accumulera dans ces conditions, qu'on désigne, chez l'homme, par la dénomination de troubles métaboliques héréditaires.

Considérons par exemple l'alcaptonurie. Ce trouble est caractérisé par l'émission d'une urine brunissant au contact de l'air. Cette coloration débute à la surface en contact avec l'air et elle résulte de l'oxydation de l'acide homogentisique, un corps qui n'est pas normalement présent dans l'urine humaine.



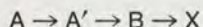
Acide homogentisique

Si on donne à un alcaptonurique de la phénylalanine ou de la tyrosine, l'excrétion d'acide homogentisique est accrue. Si on donne les acides cétoniques correspondant à la phénylalanine et à la tyrosine on observe également une excrétion accrue d'acide homogentisique. Cela indique que l'acide homogentisique est un intermédiaire dans le catabolisme de la phénylalanine et de la tyrosine.

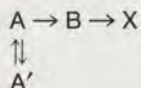
Les études relatives aux troubles métaboliques héréditaires ont conduit aux études de génétique biochimique qui ont pris une grande extension. On donne le nom d'auxotrophes d'un microorganisme à ses formes mutantes, requérant la fourniture d'un facteur déterminé, non exigé par la forme sauvage. On connaît à l'heure actuelle un grand nombre de mutants caractérisés par le déficit d'enzymes définies, c'est-à-dire chez lesquels le métabolisme est bloqué au niveau d'une réaction définie. Pour déterminer quelle est cette réaction, on recourt à deux ordres d'informations : les données relatives aux composés qui s'accumulent dans la cellule du mutant, et celles qui concernent les composés qui peuvent rétablir la croissance. Si un composé est accumulé par un mutant d'une série et s'il est utilisé comme facteur de croissance par un autre mutant de la même série, on peut conclure que le composé représente une étape du métabolisme intermédiaire.

VII. DISTINCTION ENTRE PRÉCURSEUR POSSIBLE ET PRÉCURSEUR OBLIGATOIRE

Démontrer qu'un composé peut servir de précurseur à un autre composé est une chose. Démontrer qu'il est, dans l'organisme, l'intermédiaire normal en est une autre. Prenons le cas d'un microorganisme sauvage au sujet duquel il est démontré, par la méthode isotopique et par le recours aux enzymes purifiés, qu'il est capable de convertir en X le composé A aussi bien que le composé B. Un enzyme unique, isolé du microorganisme, catalyse la conversion de A en B. Supposons qu'on observe qu'un mutant du microorganisme ne soit plus capable de convertir A en B et que ce mutant soit auxotrophe pour X. On aboutit à une conclusion résultant de la combinaison de méthodes destructives et de méthodes non destructives : c'est que le microorganisme sauvage est le siège de la séquence $A \rightarrow B \rightarrow X$. On a donc dans un cas l'accumulation de A chez un mutant, alors que A est utilisé par le microorganisme sauvage. Supposons maintenant que l'on observe qu'un extrait du microorganisme sauvage soit capable de produire B à partir d'un autre précurseur A', alors que le mutant ne le fait pas. D'autre part, isolant des enzymes purifiés à partir du microorganisme sauvage, on a, comme nous l'avons déjà dit, montré qu'un enzyme est capable de transformer A en B. On observe aussi que pour obtenir B à partir de A', il faut mettre en jeu l'action de deux enzymes. Outre l'enzyme catalysant la réaction $A \rightarrow B$, il faut mettre en jeu l'enzyme catalysant la réaction $A' \rightarrow A$. Dans ces conditions, on devra conclure que la séquence métabolique n'est pas



mais est de la forme



C'est là une illustration de l'importance des études sur les enzymes purifiés, à côté des expériences relevant de méthodes non destructives.

A CONSULTER

- ABBOTT, B. C., HILL, A. V. et HOWARTH, J. V. *Proc. Roy. Soc. B*, 1958, **148**, 149.
 AUBERT, X., CHANCE, B. et KEYNES, R. D. *Proc. Roy. Soc. B*, 1964, **160**, 211.
 BALDWIN, E. *Dynamic aspects of biochemistry*. 3^e édit. Cambridge Univ. Press, London, 1957.
 BERGSTROM, S., DANIELSSON, H. et SAMUELSSON, B. in K. Bloch : *The metabolism of lipids*. Wiley, New York, 1960.
 CALDWELL, P. C., *J. Physiol.*, 1956, **132**, 35 P.
 CALDWELL, P. C., HODGKIN, A. L. KEYNES, R. D. et SHAW, T. I. *J. Physiol.* 1960, **152**, 561.
 DIXON, D. *Manometric methods*. Cambridge Univ. Press, London, 1951.
 FRANCIS, G. E., MULLIGAN, W. et WORMALL, A. *Isotopic tracers*. Athlone Press, London, 1954.
 HARRIS, H. *Human biochemical genetics*. Cambridge Univ. Press, 1959.
 HODGKIN, A. L. *Biol. Rev.*, 1951, **26**, 339.
 KAMEN, M. D. *Isotopic tracers in biology*. 3^e édit. Academic Press, New York, 1957.
 SCHOENHEIMER, R. et RITTENBERG, D. *J. Biol. Chem.*, 1935, **111**, 163.

- SCHOENHEIMER, R. The dynamic state of body constituents. Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1946.
- SCHOFFENIELS, E. Arch. Internat. Physiol. Biochim., 1960, **68**, 1.
- SKOU, J. C. Biochim. Biophys. Acta, 1957, **23**, 394.
- SKOU, J. C. Progr. in Biophysics, 1964, **14**, 133.
- STEINER, R. F. The chemical foundations of molecular biology. Van Nostrand Co., Princeton, 1965.
- UMBREIT, W. W., BURRIS, R. H. et STAUFFER, J. E. Manometric techniques and tissue metabolism. 2^e édit. Burgess, Minneapolis, 1949.
- USSING, H. H. Acta Physiol. Scand. 1949, **19**, 43.
- WAGNER, R. P. et MITCHELL, H. K. Genetics and metabolism. Wiley, New York, 1955.
- Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 2, 3, 4. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1962.
- Methods in enzymology (Publié sous la direction de S. P. Colowick et N. O. Kaplan), Vol. 1. Academic Press, New York, 1955.

CHAPITRE 3

Les principes généraux de l'énergétique biochimique

I. Anabolisme et catabolisme	19
II. L'énergie libre et l'entropie : la deuxième loi de la thermodynamique	21
III. Relation entre énergie libre et constante d'équilibre	23
IV. Précision sur la signification de l'entropie.	24
Nature statistique de la deuxième loi de la thermodynamique	
V. Les formes de l'énergie	25
VI. Le travail	26
VII. La notion de couplage	27
VIII. La thermodynamique des processus irréversibles	28
L'équilibre et l'état stationnaire des flux	

I. ANABOLISME ET CATABOLISME

Les organismes vivants, qu'ils soient monocellulaires ou pluricellulaires, sont capables d'activités multiples (croissance, mouvement, production d'électricité, de lumière, etc.). Actuellement on peut ramener ces activités à un ensemble de réactions chimiques auquel on donne le nom de métabolisme. On considère généralement que le métabolisme d'une cellule ou d'un organisme est formé de deux groupes principaux de réactions chimiques :

l'anabolisme : groupe les réactions chimiques dont le rôle consiste à élaborer des molécules complexes à partir d'éléments ou de molécules simples ;

le catabolisme : groupe l'ensemble des réactions aboutissant à la dégradation chimique de molécules complexes en produits plus simples.

Dans une cellule les réactions anaboliques et cataboliques ont lieu

simultanément. Cette constatation soulève de nombreux problèmes lorsqu'on considère l'énergétique du système. Les réactions anaboliques nécessitent la fourniture d'énergie alors que les réactions cataboliques en produisent. La première question qui se pose est donc de connaître le bilan énergétique d'une cellule ou d'un organisme, afin de savoir s'il est possible d'appliquer les lois de la thermodynamique à un tel système.

Bien que les progrès les plus spectaculaires dans le domaine de l'énergétique biologique aient été réalisés récemment, les expériences fondamentales ont été accomplies à la fin du siècle dernier par Rubner en Allemagne et Atwater, Rosa et Benedict aux Etats-Unis. Ces auteurs ont construit des calorimètres capables de contenir un animal et conçus de telle sorte que les mesures suivantes pouvaient être faites simultanément :

- a) production totale d'énergie mesurée sous forme de chaleur ;
- b) consommation totale d'oxygène ;
- c) production totale de CO_2 ;
- d) excrétion totale d'azote.

A partir des mesures b), c) et d) il est possible de calculer la quantité de glucides, de lipides et de protéines utilisée par l'organisme au cours d'une expérience et la production totale d'énergie dérivée des transformations par ces substances. En effet, au préalable, on effectue une détermination de la valeur calorique de ces substances par combustion dans une bombe calorimétrique. Que les sujets soient au repos ou actifs, les valeurs observées et les valeurs calculées quant à la production de chaleur, concordent dans les limites des erreurs expérimentales (Tableau 3-1). Ceci démontre qu'un organisme ne peut créer de l'énergie. **Les organismes vivants, comme n'importe quelle autre machine, obéissent à la loi de la conservation de la masse et de l'énergie, c'est-à-dire à la première loi de la thermodynamique.**

Tableau 3-1

PRODUCTION DE CHALEUR CHEZ LE CHIEN

Comparaison des valeurs calculées et des résultats expérimentaux. Résultats exprimés en $\text{Kcal. m}^{-2} 24 \text{ h}^{-1}$

Régime	Durée de l'expér. Jours	Production de chaleur		Différences %
		calc.	exp.	
Jeûne	5	1296.3	1305.2	- 0.7
Graisse	5	1510.1	1498.3	+ 0.79
Viande	7	4780.8	4769.3	+ 0.24

Ces résultats montrent que l'énergie utilisée pour l'anabolisme doit être tirée de processus cataboliques. Il doit donc y avoir un couplage entre catabolisme et anabolisme, c'est-à-dire un mécanisme permettant le transfert d'énergie d'une réaction à l'autre. Le problème est de savoir comment la cellule capte l'énergie d'une réaction catabolique pour l'utiliser dans une réaction anabolique. Nous pouvons préciser ce problème en le posant sous forme de trois questions :

- a) Quelle est la source biologique d'énergie ?
- b) Comment cette énergie est-elle captée par la cellule ?
- c) Comment cette énergie est-elle utilisée pour effectuer un travail ?

II. L'ÉNERGIE LIBRE ET L'ENTROPIE : LA DEUXIÈME LOI DE LA THERMODYNAMIQUE

Avant de pénétrer plus avant dans notre exposé, il est nécessaire de connaître les conditions qui déterminent si oui ou non une réaction chimique peut avoir lieu. Pour analyser ces conditions, il n'est pas nécessaire d'entrer dans le détail de longues considérations thermodynamiques. Examinons plutôt l'analogie mécanique suivante.

Il s'agit d'un corps parfaitement lisse qui se trouve sur un plan horizontal parfaitement lisse. Ce corps a une certaine énergie potentielle. Elle est pourtant inutilisable aussi longtemps que le plan reste horizontal. Inclignons le plan. Le corps glisse vers le bas parce que son énergie potentielle devient utilisable. Lorsque le corps se déplace, il peut effectuer un travail et la quantité de travail produite sera égale à la quantité d'énergie potentielle perdue par le corps. La quantité de travail fournie dépendra évidemment du système. Théoriquement, il est possible d'imaginer un corps glissant sur un plan de longueur infinie jusqu'à ce que toute l'énergie potentielle ait été convertie en travail, ceci n'est pourtant pas un cas d'intérêt pratique. Généralement, seule une partie de l'énergie potentielle totale est utilisable pour effectuer un travail. Une plus ou moins grande partie de cette énergie totale est toujours inutilisable, excepté théoriquement. Nous devons donc distinguer entre énergie totale du système et énergie immédiatement disponible pour effectuer un travail. Cette dernière quantité est appelée énergie libre.

Nous savons par expérience qu'un corps ne s'élève jamais spontanément le long d'un plan incliné : ce mouvement ne peut s'effectuer que si on apporte de l'énergie au système à partir d'une source extérieure. Laisse à lui-même, le corps glissera toujours le long du plan incliné, à condition que les forces de frictions ne soient pas trop grandes. Si ces forces sont réduites à 0, le corps glissera et le système pourra effectuer un travail. Il est en effet vrai que dans un tel système l'énergie libre tend toujours à décroître et l'énergie libre perdue peut être convertie en travail.

Nous pouvons préciser ces notions en examinant une machine thermique à laquelle nous fournissons une quantité d'énergie égale à Q . Cette énergie est fournie à la température T_1 et amenée à une température T_2 . La quantité de travail fournie par cette machine est

$$W = Q \frac{T_1 - T_2}{T_1} \quad (3-1)$$

qui peut s'écrire

$$W = Q - Q \frac{T_2}{T_1} \quad (3-2)$$

Donc le maximum de travail pouvant être accompli sera toujours inférieur au travail total possible d'une quantité donnée par $Q \frac{T_2}{T_1}$. Il apparaît également qu'une telle machine ne pourra produire un travail que si la chaleur est amenée d'une température élevée à une température basse, car si $T_1 = T_2$, $W = 0$. Cette constatation est importante puisqu'on sait

qu'un système biochimique fonctionne à température constante. De plus une machine de ce type ne peut convertir son énergie totale en travail que si $Q \frac{T_2}{T_1} = 0$, c'est-à-dire si $T_2 = 0$. C'est le 0 absolu. Pour $T_2 > 0$ une partie de l'énergie totale ne sera pas disponible. Cette quantité d'énergie non disponible à une température T est donc déterminée par le produit de cette température et le facteur $\frac{Q}{T_1} = S$. C'est l'entropie du système. L'entropie mesure donc cette partie de l'énergie totale qui est inutilisable pour effectuer un travail.

Nous pouvons appliquer le raisonnement ci-dessus à tout système autre qu'une machine thermique et nous pouvons écrire plus généralement pour un système fonctionnant à la température T :

$$F = H - TS \quad (3-3)$$

où F est l'énergie libre

H , l'énergie calorique totale (enthalpie ou contenu thermique) et

S , l'entropie.

Il est impossible de déterminer les valeurs absolues de ces variables, excepté T , puisqu'il faudrait pour cela connaître l'énergie libre et l'entropie de l'univers ! Nous pouvons toutefois observer les variations subies par le système lorsqu'il passe de l'état initial à un nouvel état représenté par $F' = H' - TS'$

(3-4)

En soustrayant (3-4) de (3-3) on obtient

$$\Delta F = \Delta H - T\Delta S \quad (3-5)$$

Dans un système chimique comme dans tout autre système, lorsqu'un changement a lieu c'est toujours dans le sens d'une diminution de l'énergie libre. Un changement dans un système chimique peut intervenir spontanément si le résultat est une diminution de l'énergie libre. D'autre part une réaction impliquant un accroissement d'énergie libre ne peut avoir lieu que si cette réaction dispose d'une source adéquate d'énergie.

Les réactions chimiques s'accompagnent soit d'une production de chaleur (exothermique) soit d'une absorption de chaleur (endothermique). La variation thermique ne correspond toutefois pas à la modification de l'énergie libre, puisqu'il faut également connaître le changement d'entropie. C'est donc la connaissance de la variation d'énergie libre qui nous permettra de dire si une réaction chimique est possible ou non.

Une réaction chimique sera dite endergonique si la variation d'énergie libre est positive, c'est-à-dire si il faut fournir de l'énergie pour que cette réaction ait lieu. Elle sera dite exergonique si la variation d'énergie libre est négative, c'est-à-dire si de l'énergie est libérée au cours de la réaction. Une façon de fournir de l'énergie à une réaction endergonique est de la coupler à une réaction exergonique. La seule nécessité thermodynamique pour qu'une réaction exergonique puisse faire fonctionner une réaction endergonique est que la réaction exergonique fournisse plus d'énergie libre que celle nécessaire à la réaction endergonique. Il faut donc que la réaction totale soit exergonique.

III. RELATION ENTRE ÉNERGIE LIBRE ET CONSTANTE D'ÉQUILIBRE

Dans une réaction chimique ce que nous pouvons mesurer directement c'est ΔH , la variation d'énergie calorique totale. Quant à ΔF , il est possible de démontrer que

$$\Delta F^\circ = -RT \ln K \quad (3-6)$$

où K est la constante d'équilibre définie pour la réaction



$$K = \frac{[C] [D]}{[A] [B]} \quad (3-8)$$

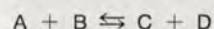
R est la constante des gaz ⁽¹⁾, T la température absolue, $\ln$ le logarithme de base e ⁽²⁾, et ΔF° est la variation standard d'énergie libre, c'est-à-dire la variation d'énergie libre d'une réaction dans laquelle tous les réactifs sont à l'état standard ou normal et réagissent pour former des produits également à l'état standard ou normal.

L'état standard est une condition de référence très commode dans laquelle les activités (voir p. 27) sont arbitrairement définies comme étant égales à l'unité (sans dimension) pour les solides ou les liquides, 1 atmosphère pour les gaz, et pour les substances en solution à la concentration 1 M à la température de 25° ⁽³⁾. En conséquence ΔF° est constant pour une réaction donnée.

La variation d'énergie libre standard ΔF° ne doit pas être confondue avec la variation d'énergie libre ΔF . Dans le cas d'une réaction où les réactifs et les produits **ne sont pas à l'état standard**, on a la relation

$$\Delta F = \Delta F^\circ + RT \ln \frac{[C] [D]}{[A] [B]} \quad (3-9)$$

dans le cas où



et où $[A]$ et $[B]$ représentent les concentrations initiales des réactifs et $[C]$ et $[D]$ les concentrations finales des produits obtenus.

C'est donc ΔF et non ΔF° qui détermine si oui ou non une réaction pourra se faire spontanément. Cette distinction n'est pas toujours faite dans la littérature.

⁽¹⁾ Les différentes valeurs numériques de R sont données au chapitre 8, p. 197.

⁽²⁾ Le logarithme de base e , $\log_e$ ou $\ln$, est aussi appelé logarithme naturel ou népérien. Il est lié par la relation suivante au logarithme décimal :

$$\ln x = 2.303 \log_{10} x$$

⁽³⁾ Strictement parlant l'état standard pour un soluté est égal à l'unité d'activité (voir p. 27), l'échelle des activités étant choisie de telle sorte que le rapport de l'activité à la concentration molaire ou molale tende vers l'unité quand la concentration approche de zéro. Donc une solution d'activité unitaire ne sera pas en général exactement une fois molaire (ou molale). En thermodynamique la concentration est habituellement exprimée en molarité parce qu'ainsi elle est indépendante de la température. En biochimie lorsqu'il s'agit de solutions aqueuses, l'utilisation de la molarité n'introduit pas d'erreur appréciable. Une solution molale contient 1 mole de substance par litre de solution alors qu'une solution molale contient 1 mole de substance par 1000 grammes de solvant.

ΔF° est la valeur qui est toujours indiquée dans les tables pour une réaction donnée, parce que c'est une quantité bien définie pour un type de réaction alors que ΔF varie selon les quantités de réactifs effectivement mises en œuvre comme l'indique l'équation (3-9).

Nous avons vu plus haut qu'une réaction chimique est thermodynamiquement possible si elle est exergonique. Le fait d'avoir lieu ou non est une autre affaire. Un corps ne glissera pas sur un plan incliné rugueux, la force de friction étant trop grande. Il en est de même d'une réaction chimique, les molécules doivent être dans un état réactionnel. Par exemple une solution de saccharose ne s'hydrolysera pas spontanément en milieu neutre alors qu'une telle réaction est thermodynamiquement possible. Les molécules ne sont pas réactionnelles. Si nous ajoutons un enzyme spécifique ou un acide, le sucre sera hydrolysé. Il y a eu activation des molécules. Il en résulte qu'un catalyseur ne peut mettre en train ou accélérer une réaction que si elle est possible sur une base énergétique. Tout ce qu'un catalyseur peut faire, c'est d'influencer la vitesse à laquelle une réaction possible thermodynamiquement a lieu.

Nous reviendrons sur ce point à propos des enzymes (énergie d'activation : chapitre 7).

IV. PRÉCISION SUR LA SIGNIFICATION DE L'ENTROPIE NATURE STATISTIQUE DE LA DEUXIÈME LOI DE LA THERMODYNAMIQUE

La deuxième loi considérée du point de vue de la théorie cinétique est une loi statistique. Elle exprime la tendance au désordre d'un système constitué d'un grand nombre de particules. Considérons l'exemple suivant. Il s'agit d'une solution colorée séparée par une paroi imperméable d'une enceinte contenant le solvant pur. Si nous enlevons le diaphragme, après un temps plus ou moins long la solution apparaîtra uniformément colorée. Il y a une diffusion des molécules du colorant et uniformisation de la concentration. La diffusion ne provient pas nécessairement du fait que les molécules de colorant sont forcées de quitter un endroit à concentration élevée pour un endroit à concentration basse par suite d'une interaction des molécules entre elles. Imaginons que le système soit divisé en tranches. Au moment où le diaphragme est enlevé, il y a une concentration élevée en colorant dans la tranche immédiatement en contact avec le solvant pur. La probabilité que les molécules de colorant formant la séparation entre solution et solvant pur, se déplacent dans l'une ou l'autre direction est la même. Mais puisqu'il y a plus de molécules du côté de la solution que du côté du solvant pur, la probabilité que les molécules se déplacent vers le solvant est plus grande que dans le sens inverse. Le processus continuera jusqu'à homogénéisation complète de la solution.

La deuxième loi appliquée à une molécule n'a donc pas de sens, puisque la distinction entre énergie associée au désordre, c'est-à-dire chaleur et énergie associée à l'ordre, c'est-à-dire travail, disparaît. La deuxième loi signifie donc qu'un système laissé à lui-même tend à aller

d'un état organisé vers un état désorganisé jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint ce qui correspond à la valeur maximum de l'entropie.

Tous les phénomènes naturels montrent une augmentation inexorable de l'entropie. La vie se distingue par le fait que l'état caractérisé par une entropie maximum, c'est-à-dire la mort, est retardé, mais non aboli, par une consommation d'entropie négative à partir du milieu.

L'entropie donne une mesure du chaos, de l'état de désordre. Comme le désordre est plus probable que l'ordre, il y a une relation entre entropie et probabilité. C'est pourquoi Boltzman a défini la probabilité thermodynamique d'un système comme étant le rapport de la probabilité d'un état actuel à celui d'un état ayant la même énergie et le même volume, mais dans lequel les molécules sont parfaitement ordonnées.

Si S est l'entropie et W la probabilité d'un système on peut écrire $S = f(W)$.

Pour définir cette fonction, considérons deux systèmes ayant des entropies S_1 et S_2 et les probabilités correspondantes W_1 et W_2 . L'entropie est une propriété extensive, alors que la probabilité est $W = W_1 W_2$ d'où $S = S_1 + S_2 = f(W_1 W_2)$.

Comme

$S_1 = f(W_1)$ et $S_2 = f(W_2)$ il s'ensuit que

$$f(W_1 W_2) = f(W_1) + f(W_2).$$

Pour satisfaire cette condition il faut que la fonction soit logarithmique et on peut écrire

$$S = k \ln W + \text{Cte où}$$

k est la constante de Boltzman. Elle est définie par le rapport $\frac{R}{N}$ dans lequel R est la constante des gaz et N le nombre d'Avogadro.

V. LES FORMES DE L'ÉNERGIE

L'énergie est habituellement définie comme ce qui a la capacité de produire un travail. Cette définition n'est pas précise puisque toutes les formes d'énergie ne peuvent pas être converties en travail avec une efficacité égale, même dans les conditions idéales. Les concepts d'énergie et de travail trouvent leur origine dans la longue expérience humaine des sociétés soumises aux lois de la mécanique. C'est pourquoi, très généralement, le concept de travail éveille en nous une représentation mécanique et suggère l'action qui consiste à déplacer un objet d'un endroit à un autre ou d'un niveau à un niveau plus élevé. L'énergie est alors ce qui est dépensé pour effectuer cette action. La vie quotidienne nous donne également des exemples de mise en réserve de l'énergie. Par exemple, si nous portons un rocher au sommet d'une colline, nous savons par expérience que le rocher roulera vers la vallée, spontanément, c'est-à-dire sans une dépense supplémentaire d'énergie de notre part. L'énergie que nous avons dépensée pour amener le rocher au sommet de la colline a donc été emmagasinée. Nous savons également qu'une cellule ou un

organisme peut aussi constituer des réserves d'énergie. Quelles sont les formes de l'énergie ?

Nous sommes familiarisés avec l'énergie potentielle et l'énergie cinétique d'un système mécanique. Il y a également l'énergie pression-volume associée avec la compression et la décompression d'un gaz. L'énergie de surface est l'énergie introduite ou libérée par une surface possédant une tension de surface. L'énergie électrique provient de la circulation d'un courant électrique entre une différence de potentiel. L'énergie chimique est l'énergie accumulée dans une molécule (propriété constitutive) alors que l'énergie potentielle chimique est en rapport avec le nombre de molécules ou d'ions présents dans le système (propriété colligative). Il y a enfin l'énergie radiante qui est associée au rayonnement électromagnétique.

L'énergie est composée d'un facteur capacité et d'un facteur intensité, l'énergie étant le produit de ces deux quantités. Si on double les dimensions d'un système, le contenu énergétique sera doublé parce que le facteur capacité est doublé. Dans l'énergie pression-volume, le volume est le facteur capacité alors que la pression est l'intensité. Dans l'énergie électrique, la quantité de charge (c'est-à-dire le nombre de coulombs) est le facteur capacité, la différence de potentiel est le facteur d'intensité. Dans le cas de l'énergie potentielle chimique, le nombre total de moles de la substance représente le facteur capacité, alors que c'est le potentiel chimique (en première approximation la concentration) qui représente le facteur intensité. Il est facile de voir que c'est donc le facteur intensité qui déterminera la direction du mouvement de l'énergie et nous pouvons en effet dire que l'énergie se déplace d'un endroit à intensité élevée vers un endroit à intensité basse. Ce mouvement continuera jusqu'à égalisation des intensités.

VI. LE TRAVAIL

De même que nous avons défini différents types d'énergie, nous pouvons définir différents types de travail :

a) Travail mécanique : distance (cm) $\times$ force (dyne) = travail (erg).

b) Travail électrique : W (joule) = nF (coulomb) ΔE (Volt) où n est la valence ou le nombre d'électrons transférés, F , l'unité de quantité d'électricité et ΔE , la différence de potentiel.

c) Travail pression-volume $W = nRT \ln \frac{P_1}{P_2} = nRT \ln \frac{V_1}{V_2}$ où n est le nombre de moles transférées.

d) Travail osmotique = $W = n (\mu_1 - \mu_2)$.

μ est le potentiel chimique, c'est-à-dire le type d'énergie associée avec chaque composant d'une solution ou d'un gaz (propriété colligative). Cette énergie peut être représentée par la tendance d'une substance à

s'échapper d'une phase vers une autre. μ peut s'exprimer en termes de concentration

$$\mu = \mu^\circ + RT \ln f_c$$

$f_c = a =$ activité

$f =$ coefficient d'activité

$c =$ concentration

$\mu^\circ =$ potentiel chimique pour $f_c = 1$ c'est-à-dire le potentiel chimique standard.

En remplaçant μ par sa valeur dans l'expression du travail osmotique il vient :

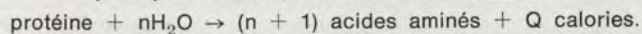
$$W = nRT \ln \frac{a_1}{a_2}$$

où n est égal au nombre d'ion-grammes ou de moles transférés.

e) Travail photochimique : c'est la production d'énergie radiante au cours d'une réaction chimique. Certains organismes sont pourvus des systèmes chimiques adéquats leur permettant d'effectuer ce travail, c'est la bioluminescence. Réciproquement l'énergie radiante peut s'accumuler dans certains composés, c'est la photosynthèse.

f) Travail chimique.

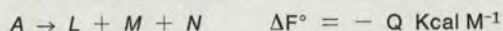
L'hydrolyse d'une protéine s'accompagne de la libération d'énergie :



Pour que la réaction se fasse de droite à gauche on doit donc apporter Q calories au système. C'est le travail chimique.

VII. LA NOTION DE COUPLAGE

Considérons, dans un système biologique, un processus catabolique caractérisé par la réaction suivante :



Si nous postulons la présence d'un système approprié, Q Kcal d'énergie libre par mole sont disponibles pour l'activité anabolique ou pour tout autre processus endergonique. Dans une réaction chimique *in vitro* où il n'y a pas de transformateur adéquat pour convertir l'énergie libre en une forme appropriée pour le travail cellulaire, l'énergie libre est dissipée sous forme de chaleur en quantité donnée par

$$\Delta H = \Delta F + T\Delta S.$$

En principe pour que la réaction se fasse de droite à gauche, c'est-à-dire pour synthétiser A , Q Kcal doivent être fournies au système. La deuxième loi de la thermodynamique montre que pour que la chaleur soit convertie en travail il faut qu'elle passe d'un endroit à température élevée

vers un endroit à température basse. Comme dans les systèmes biologiques la température est essentiellement constante, la réversibilité de la réaction ci-dessus ne peut se faire par la simple adjonction d'énergie calorique. Le principal mécanisme pour reformer les réactifs est de modifier favorablement l'énergie libre d'un des produits.

Cette situation est réalisée en **couplant** la réaction endergonique à une réaction exergonique par l'intermédiaire d'un réactif commun aux deux réactions. Cette notion importante de couplage sera examinée en détails dans le chapitre 8.

VIII. LA THERMODYNAMIQUE DES PROCESSUS IRRÉVERSIBLES L'ÉQUILIBRE ET L'ÉTAT STATIONNAIRE DES FLUX

Un système laissé à lui-même finit par atteindre un état d'équilibre. Lorsque toutes les réactions antagonistes sont opposées, lorsque les gradients de concentration, de pression, de chaleur, etc. sont annulés, le système reste fixe dans le temps. Cet état indépendant du temps est appelé équilibre.

Les principes de thermodynamique classique qui viennent d'être brièvement définis sont applicables à de tels systèmes fermés et en équilibre, c'est-à-dire ceux qui n'échangent ni matière ni énergie avec l'environnement. Nous savons toutefois que cette situation idéalisée est loin de pouvoir s'appliquer à une cellule ou à un organisme vivant. Il existe en effet un autre type d'état, également indépendant du temps, mais qui est toutefois très différent de l'état d'équilibre qui vient d'être défini. Supposons que de l'énergie et de la matière entrent dans un système, y réagissent et quittent le système, à une vitesse telle que toute entrée de matière et d'énergie soit exactement balancée par une sortie d'énergie et de matière, nous aurons défini un autre état indépendant du temps. Ce état est très voisin de ce qui se passe dans une cellule vivante.

Il s'agit, en effet, dans ce dernier cas de systèmes ouverts qui échangent continuellement de la matière et de l'énergie avec le milieu extérieur. Toutes les substances entrant dans la composition d'une cellule semblent avoir une concentration constante. Pourtant elles ne sont jamais en état d'équilibre thermodynamique vrai mais plutôt dans un état stationnaire de flux (équilibre dynamique ou « steady state ») caractérisé par le fait que la vitesse de formation d'une substance est exactement équilibrée par sa vitesse de destruction.

Une autre caractéristique des systèmes vivants réside dans le fait qu'ils augmentent l'entropie de l'univers : il s'agit donc de systèmes ouverts, irréversibles ⁽¹⁾ qui se trouvent dans un état d'équilibre dynamique et pour lesquels le temps et la vitesse sont des éléments importants.

⁽¹⁾ On dit qu'une réaction est réversible lorsqu'elle est à l'équilibre. Un phénomène irréversible par contre est un phénomène dans lequel il est impossible de ramener les systèmes en jeu à leur état original sans un apport d'énergie externe. Tous les systèmes ne sont pas également réversibles. La mesure de l'irréversibilité est donnée par l'augmentation d'entropie.

Une autre caractéristique de la cellule, et qui limite l'application de la thermodynamique classique à son étude, est sa petitesse. La thermodynamique classique a pour objet l'étude de populations de molécules, et ses prévisions sont d'autant plus précises que le nombre de molécules considéré est grand. Cet aspect statistique du problème a été considéré précédemment. Or il est possible de démontrer que dans certaines cellules il n'y a qu'une trentaine d'ions hydrogène par exemple. On sait aussi que dans le cas des bactéries, l'acide désoxyribonucléique n'y est représenté que par une ou deux molécules. Il en est de même de certains enzymes. On doit observer une prudente méfiance dans l'application de lois établies pour des populations importantes de molécules.

La thermodynamique classique est en outre essentiellement une théorie décrivant des systèmes à l'équilibre ou encore la variation énergétique observée lorsqu'on passe d'un état d'équilibre à un autre état d'équilibre. La notion de temps et de vitesse n'est donc pas considérée, pas plus d'ailleurs que celle de frottement. Or nous savons que dans les systèmes réels, les changements sont toujours accompagnés de frottements qui sont eux-mêmes une fonction du temps.

La thermodynamique classique est donc inadéquate pour décrire l'ensemble des réactions chimiques dont une cellule est le siège. Lorsqu'on utilise les lois de la thermodynamique classique dans le cas d'un phénomène irréversible, on obtient une inégalité décrivant seulement la direction du changement. C'est pourquoi les phénomènes biologiques tels la contraction musculaire, le transport actif, la production du potentiel d'action, etc. ne peuvent être l'objet d'une description quantitative que s'ils sont analysés à la lumière d'équations basées sur un modèle cinétique ou statistique.

La subordination de l'étude d'un phénomène biologique complexe à l'emploi d'un modèle, limite automatiquement l'utilité d'une analyse mathématique détaillée puisqu'une même série de résultats peut se représenter à l'aide de fonctions mathématiques diverses correspondant chacune à des modèles cinétiques ou statistiques différents.

Il est donc avantageux de disposer d'une méthode permettant de rechercher d'une façon plus formelle les corrélations existant entre divers phénomènes indépendamment de tout modèle préconçu et qui en même temps offre l'avantage d'ouvrir des perspectives nouvelles d'interprétation. Un pas important dans la solution de ce problème a été fait en appliquant à l'étude des phénomènes biologiques, le formalisme de la thermodynamique des processus irréversibles.

On pourrait arguer qu'il est sans intérêt de soumettre certains phénomènes biologiques à l'analyse en se basant sur les lois de la thermodynamique classique. Il faut cependant signaler qu'il est indispensable de définir les éléments les plus simples d'un système complexe avant d'espérer pouvoir comprendre le fonctionnement du système dans son ensemble. Les variations énergétiques d'une réaction chimique simple sont facilement analysables à l'aide de la théorie classique. Ce n'est que lorsqu'on s'adresse à une séquence métabolique en équilibre dynamique que l'analyse thermodynamique devient difficile.

A CONSULTER

- ACKERMAN, E. Biophysical science. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1962.
- KATCHALSKY, A. et CURRAN, P. F. Nonequilibrium thermodynamics in biophysics. Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass., 1965.
- LEHNINGER, A. L. Bioenergetics. Benjamin, New York, 1965.
- PAULING, L. Chimie générale. 2^e édit. Dunod, Paris, 1956.
- Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 1. Academic Press, New York, 1960.
- Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 2. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1962.
- Metabolic pathways, 2nd edition of Chemical pathways of metabolism (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 1. Academic Press, New York, 1960.

CHAPITRE 4

Energie des orbitales moléculaires

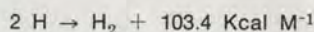
I. Structure électronique des éléments	31
II. La résonance et la délocalisation électronique	35
III. Indices énergétiques et structuraux associés aux systèmes moléculaires d'électrons pi	36
A. Indices énergétiques	37
1. Energie des orbitales moléculaires	37
2. Energie de résonance	37
3. Energies de localisation.	38
B. Indices structuraux.	38
1. Charge électrique des atomes	38
2. Indice de liaison mobile.	39
3. Indice de valence libre	39
IV. Les valences secondaires	39
A. Les principaux types de liaisons faibles	40
1. Les forces de Van der Waals	40
2. La liaison hydrogène	42
3. La liaison ionique	43
B. Importance biologique des valences secondaires	44

I. STRUCTURE ÉLECTRONIQUE DES ÉLÉMENTS

Les atomes formant les molécules polyatomiques sont solidement unis par un type de liaison très important : la liaison par paire d'électrons ou liaison covalente. C'est cette liaison que l'on représente par un trait dans les formules chimiques de valence.

L'exemple le plus simple d'une liaison covalente est la molécule d'hydrogène. L'électron de chaque atome d'hydrogène est mis en commun pour constituer une paire entre les deux atomes, formant ainsi la liaison qui les unit. Cette structure correspond à la liaison de valence $H-H$.

Il faut une grande quantité d'énergie pour rompre cette liaison (103.4 Kcal M⁻¹). Cette quantité d'énergie est libérée lorsque se forme l'hydrogène moléculaire à partir des atomes :



En ce qui concerne les atomes contenant plusieurs électrons, on possède, depuis plusieurs années et grâce surtout à l'étude des spectres de raies, une connaissance détaillée de leur structure. Cette connaissance étant nécessaire pour comprendre non seulement la notion de valence mais aussi la structure des molécules, nous définirons rapidement quelques notions indispensables à la compréhension des caractères particuliers propres aux molécules dont dépendent les propriétés de la matière vivante.

Considérons la structure électronique des gaz rares. Autour du noyau de l'atome gravitent un certain nombre d'électrons disposés en couches concentriques. L'atome d'hélium contient deux électrons, celui du néon dix, etc.

Les électrons se disposent au niveau de couches concentriques successives qui, en allant du noyau vers la périphérie, sont représentées par les lettres K, L, M, etc. On voit (Tableau 4-1) que les nombres 2, 8, 18, 32 qui représentent les nombres maxima d'électrons pouvant occuper les couches successives sont égaux à $2n^2$ où n peut prendre les valeurs 1, 2, 3 ou 4. Une couche donnée peut être occupée par un nombre quelconque d'électrons inférieur ou égal à sa capacité maximum.

Tableau 4-1
COUCHES ÉLECTRONIQUES DES GAZ NOBLES

	1	2	3	4	5	6
	K	L	M	N	O	P
He	2					
Ne	2	8				
Ar	2	8	8			
Kr	2	8	18	8		
Xe	2	8	18	18	8	
Rn	2	8	18	32	18	8

Les configurations comportant 2 ou 8, 18 et 32 électrons par couche (correspondant ainsi à 8 électrons dans la couche la plus superficielle) sont particulièrement stables. La stabilité correspondant à ces nombres d'électrons résulte du fait que chaque couche, excepté la couche K, est constituée de deux ou plusieurs sous-couches de stabilité variable. On utilise les lettres s, p, d et f ⁽¹⁾ pour représenter les sous-couches, la couche à laquelle appartient la sous-couche considérée est alors indiquée en faisant précéder la lettre minuscule du chiffre arabe correspondant à la couche (Tableau 4-2).

(1) Les lettres s, p, d et f utilisées pour caractériser les sous-couches successives proviennent de la nomenclature introduite par les spectroscopistes avant le développement de la théorie de la structure atomique. Elles sont les premières lettres des mots anglais sharp, principal, diffuse et fundamental, caractérisant certaines raies de spectres atomiques. Les sous-couches suivantes sont désignées par les lettres g, h, i, k, m, puis selon l'ordre alphabétique, en omettant toutefois les lettres s et p.

Le nombre maximum d'électrons que l'on peut rencontrer dans les 4 sous-couches est de

	2 pour la sous-couche s
6	» » » p
10	» » » d
14	» » » f

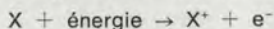
Tableau 4-2
CONFIGURATION ELECTRONIQUE DE CERTAINS ELEMENTS

C	1s ²	2s ²	2p ²									
N	1s ²	2s ²	2p ³									
O	1s ²	2s ²	2p ⁴									
P	1s ²	2s ²	2p ⁵	3s ²	3p ³							
S	1s ²	2s ²	2p ⁶	3s ²	3p ⁴							
F	1s ²	2s ²	2p ⁵									
Cl	1s ²	2s ²	2p ⁶	3s ²	3p ⁵							
Br	1s ²	2s ²	2p ⁶	3s ²	3p ⁵	3d ¹⁰	4s ²	4p ⁵				
I	1s ²	2s ²	2p ⁶	3s ²	3p ⁵	3d ¹⁰	4s ²	4p ⁵	4d ¹⁰	5s ²	5p ⁵	
Fe	1s ²	2s ²	2p ⁶	3s ²	3p ⁶	3d ⁶	4s ²					

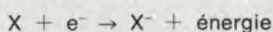
Ainsi la structure électronique du Krypton s'écrira dans cette nomenclature :

	K	L	M	N
	1s ²	2s ² 2p ⁶	3s ² 3p ⁶ 3d ¹⁰	4s ² 4p ⁶
Nombre d'élec- trons par couche	2	8	18	8

Les structures électroniques des gaz nobles correspondant à 2, 10, 18, 36, 54 ou 86 électrons disposés autour du noyau ont une très grande stabilité. On le démontre par le fait que l'énergie d'ionisation est plus grande pour les atomes des gaz nobles que pour ceux des autres éléments. Cette énergie représente celle qu'il faut dépenser pour expulser un électron de l'atome, c'est-à-dire l'énergie absorbée par la réaction



De même l'affinité électronique, c'est-à-dire l'énergie libérée lorsque l'atome capte un électron supplémentaire suivant la réaction



est nulle pour les gaz nobles qui ne peuvent s'adjoindre un électron supplémentaire.

Les électrons disposés autour du noyau dans les couches et les sous-couches qui viennent d'être définies gravitent au niveau d'orbitales. Généralement les électrons occupent les orbitales selon les quatre règles suivantes :

- 1) le nombre maximum d'électrons par orbitale est de deux ;
- 2) les orbitales les plus stables sont complétées avant les moins stables ;
- 3) le principe d'exclusion de Pauli exige que les deux électrons d'une même orbitale aient des spins ⁽¹⁾ opposés, qu'ils soient appariés ⁽²⁾ ;

⁽¹⁾ En raison de sa charge négative, la rotation (spin) de l'électron autour de son axe lui confère un moment magnétique. La théorie quantique exige que le spin de l'électron s'oriente dans un champ magnétique soit parallèlement, soit antiparallèlement. Dans le mouvement de l'électron autour du noyau, l'orbite correspond à un circuit électrique qui produit un champ magnétique dans lequel s'oriente celui du spin de l'électron.

⁽²⁾ Les électrons non appariés sont dits célibataires.

4) deux électrons ne peuvent occuper la même orbitale avant que toutes les orbitales de même stabilité possèdent un électron (Règle de Hund). L'état le plus stable apparaîtra lorsque les électrons auront des spins identiques, le principe d'exclusion de Pauli étant toutefois respecté.

Les orbitales de même stabilité, c'est-à-dire celles dont le niveau énergétique est identique peuvent appartenir à des sous-couches différentes. Dans le cas d'une configuration saturée on peut donner l'ordre suivant pour les niveaux énergétiques des orbitales successives :

1s, 2s, 2p, 3s, 3p, 4s, 3d, 4p, 5s, 4d, 5p, 6s, 4f, 5d, 6p, etc.

Quand les orbitales de stabilité équivalente contiennent un électron seulement, les électrons auront le même spin. Dans le cas de l'oxygène, élément à huit électrons (Tableau 4-2), les 4 électrons de la sous-couche p peuvent se distribuer sur 3 orbitales 2p. Ces orbitales ayant une stabilité identique accepteront donc un électron avant que l'une d'entre elles accepte un deuxième électron (Tableau 4-3).

Tableau 4-3
DISTRIBUTION DES ÉLECTRONS DANS LES 3 ORBITALES 2p DE L'OXYGÈNE

Espèce	Orbitales			Electrons non appariés
	2p _x	2p _y	2p _z	
O	↑↓	↑	↑	2
O ⁻	↑↓	↑↓	↑	1
O ⁻⁻	↑↓	↑↓	↑↓	0

La direction de la flèche indique l'orientation du spin de l'électron.

Les atomes O, O⁻ ou le radical OH⁻ contenant des électrons célibataires sont hautement réactionnels. Par contre O⁻⁻ ou H₂O, n'en possédant pas, sont extrêmement stables. Un électron non apparié donne lieu au phénomène de paramagnétisme (voir p. 190).

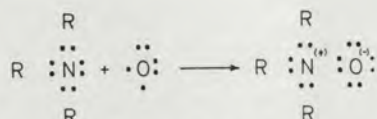
Tableau 4-4
DISTRIBUTION SCHÉMATIQUE DES ÉLECTRONS DANS LES ORBITALES SUPERFICIELLES DE CERTAINS ÉLÉMENTS

	ns	np		
C	↑↓	↑	↑	
N, P	↑↓	↑	↑	↑
O, S	↑↓	↑↓	↑	↑
F, Cl, Br, I	↑↓	↑↓	↑↓	↑

Le tableau 4-4 donne la distribution schématique des électrons dans les orbitales superficielles de certains éléments.

Liaison de coordination ou semi-polaire.

C'est une variété de liaison par covalence dans laquelle les deux électrons formant la paire proviennent du même atome. Ainsi dans la formation d'un oxyde d'amine

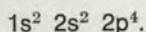


la liaison entre l'oxygène et l'azote de l'amine tertiaire est formée par une paire d'électrons provenant de l'azote.

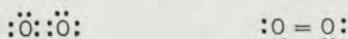
Comme l'azote et l'oxygène sont au départ électriquement neutres, le transfert d'une paire d'électrons sur l'oxygène rend ce dernier négatif alors que l'azote devient positif. D'où le nom de semi-polaire donné à ce type de liaison puisqu'il participe à la fois de la covalence et de l'attraction électrostatique entre deux ions (voir p. 43).

II. LA RÉSONANCE ET LA DÉLOCALISATION ÉLECTRONIQUE

L'atome d'oxygène possède 8 électrons et sa structure électronique se représente de la façon suivante :



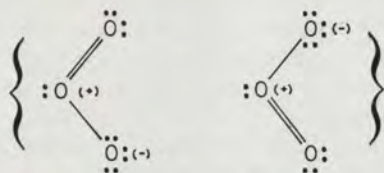
L'oxygène moléculaire est formé de molécules diatomiques d'une structure électronique particulière. On pourrait s'attendre à ce que ces molécules contiennent une double liaison, c'est-à-dire que les atomes mettent en commun deux paires d'électrons pour compléter l'octet de chaque atome



Au lieu de cette configuration, il se forme une seule paire commune d'électrons et il reste deux électrons non appariés qui sont responsables du paramagnétisme de l'oxygène moléculaire.



L'ozone, forme triatomique de l'oxygène, a la structure électronique suivante :



Un des atomes terminaux de la molécule complète son octet en prenant une paire d'électrons à son voisin, il peut être considéré comme un ion négatif formant une liaison covalente. L'atome central d'oxygène ressemble à l'atome d'azote (voir plus loin) et peut être considéré comme un ion positif qui forme trois liaisons covalentes (une double liaison et une simple

liaison). L'angle formé entre ces liaisons est de 120° . Toutefois lorsqu'on analyse en détail les caractères des liaisons unissant les atomes d'oxygène dans l'ozone, on constate que les deux types de liaison sont équivalents et qu'il s'agit d'un hybride entre une liaison simple et une liaison double. On dit que la double liaison est en résonance entre les deux positions. Il est parfois difficile d'attribuer à une molécule une seule structure électronique de liaison valentielle qui représente ses propriétés de façon satisfaisante. Deux ou plusieurs structures électroniques semblent être également valables. On dit alors que la molécule résonne entre ces structures et on écrit alors les différentes structures possibles entre accolades. Ces différentes structures ne correspondent toutefois pas à diverses espèces de molécules : il n'y a qu'une sorte de molécule dont la structure électronique est une structure hybride de deux ou plusieurs structures de valence.

III. INDICES ÉNERGÉTIQUES ET STRUCTURAUX ASSOCIÉS AUX SYSTÈMES MOLÉCULAIRES D'ÉLECTRONS π

A l'échelle atomique, la notion de forme telle que nous la concevons à partir du monde macroscopique qui nous entoure n'a pas de sens. L'électron n'est pas un corpuscule punctiforme dont la position et la vitesse peuvent être précisées. Il n'est représentable qu'en termes statistiques définissant la probabilité de présence d'un électron dans certaines régions de l'espace à un instant donné. A cette notion de la représentation de la distribution des électrons s'ajoute une autre conception dominant la représentation de la structure des atomes et des molécules. Il s'agit de la quantification de l'énergie par laquelle on démontre que les énergies des atomes et des molécules ne peuvent prendre que des valeurs bien définies.

L'électron est un nuage électrique dont la répartition dans l'espace est déterminée par une fonction mathématique appelée fonction d'onde ou orbitale. La détermination des valeurs des niveaux d'énergie permis pour les électrons d'un système et la détermination de la forme mathématique des orbitales se fait par la résolution de l'équation de Schrödinger qui n'est autre que la forme moderne de l'équation de la conservation de l'énergie. L'équation prend une forme différente dans chaque cas particulier : sa complexité grandit parallèlement à celle de l'architecture moléculaire à laquelle on l'applique. Quoi qu'il en soit pour un système polyélectronique déterminé, à partir des données fondamentales que l'on peut ainsi recueillir on définit une série d'indices énergétiques et structuraux auxquels on rattache alors différentes propriétés physico-chimiques ou biochimiques.

Les électrons d'une architecture moléculaire n'ont pas tous la même importance. Si une molécule a plusieurs liaisons doubles, c'est-à-dire si on a affaire à une molécule résonnant entre deux structures (molécule conjuguée) on distingue deux catégories d'électrons : les électrons de liaison simple ou électrons sigma et les électrons des liaisons doubles ou électrons π (électrons délocalisés). Les électrons sigma forment le squelette rigide de la molécule et sont localisés par paires couplées alors que les électrons π forment un nuage vague distribué de façon statistique et éventuellement polycentrique.

Toutes les propriétés chimiques et physico-chimiques de la molécule

sont déterminées par les électrons π . Il est intéressant de remarquer que les molécules jouant un rôle prépondérant en biochimie et qui, de ce fait, constituent le substratum nous permettant d'expliquer les caractères fondamentaux de la vie, sont des molécules conjuguées riches en électrons π délocalisés. La grande mobilité, la fluidité, la polarisabilité du nuage électronique des molécules conjuguées confèrent à ces dernières un très grand nombre de caractéristiques les rendant particulièrement propres à la transmission rapide de perturbations. Ces systèmes sont donc particulièrement aptes par leurs propriétés à réaliser les opérations qui sont à l'origine de l'activité de la matière vivante.

Les indices énergétiques et structuraux associés aux systèmes moléculaires d'électrons π sont les suivants :

A. INDICES ÉNERGÉTIQUES

1. Energie des orbitales moléculaires

Dans la description que nous avons donnée plus haut de la structure électronique des éléments, nous avons énoncé les principes fondamentaux qui régissent la disposition des orbitales électroniques. L'application de ces règles à des systèmes polyélectroniques non saturés permet ainsi de définir non seulement la plus haute orbitale occupée (*phoo*) mais aussi la plus basse orbitale libre (*pbo*).

L'énergie d'ionisation, nous l'avons vu plus haut, représente l'énergie nécessaire à l'arrachement d'un électron à un atome ou à une molécule. Cette énergie est égale et de signe contraire à l'énergie de l'orbitale sur laquelle l'électron est placé. La connaissance de ce paramètre nous permet de définir le pouvoir donneur d'électrons d'une molécule. Réciproquement l'affinité électronique, puisqu'elle représente l'énergie libérée lorsqu'un atome capte un électron supplémentaire, détermine l'énergie de la plus basse orbitale libre et partant le pouvoir accepteur d'électron de l'élément considéré.

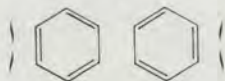
2. Energie de résonance

La propriété la plus apparente et la plus importante que la délocalisation électronique confère aux molécules qui en sont l'objet, est l'accroissement de stabilité. Quantitativement, cet accroissement de stabilité est défini par la notion d'énergie de résonance. C'est un indice de structure d'une importance fondamentale en chimie quantique et qui représente le gain de stabilité acquis par une molécule résonnante par rapport à la structure théorique.

Ainsi dans le cas du benzène, la structure théorique



serait moins stable de 40 Kcal M^{-1} que la forme résonnante



Cet accroissement de stabilité est particulièrement marqué dans les cycles

pentagonaux ou hexagonaux et dans les molécules de ce type d'importance biologique, l'énergie de résonance varie entre 30-45 Kcal M⁻¹ dans les pyrimidines, 50-80 Kcal M⁻¹ dans les purines et est de l'ordre de 200 Kcal M⁻¹ dans les porphyrines.

De toute évidence ceci représente un gain important dans les dépenses énergétiques des processus anaboliques. Nous reviendrons sur ce point lorsque nous considérerons la biosynthèse des hétérocycliques. Signalons aussi que cette stabilisation thermodynamique a certainement joué un rôle important dans la sélection de ces molécules au cours de l'évolution prébiologique.

3. Energies de localisation

Tous les électrons d'une molécule à l'état stable ou fondamental sont distribués par paires de spins opposés sur les orbitales les plus basses, laissant ainsi une série d'orbitales d'énergie plus élevée non occupées.

L'état de transition correspondant à la molécule excitée est caractérisé par le déplacement d'un électron sur une autre orbitale. L'état excité le plus bas correspond au saut d'un électron de la *phoo* à la *pboi* et la variation énergétique entre l'état final (f) et l'état initial (i) du système définit la longueur d'onde λ ou la fréquence ν des bandes d'absorption, selon l'équation :

$$h\nu = \frac{hc}{\lambda} = E_f - E_i$$

où h est la constante de Planck et c la vitesse de la lumière.

Dans le but de prévoir l'ordre de réactivité relatif de composés intervenant dans une séquence de réactions chimiques, on doit pouvoir estimer les grandeurs caractéristiques des états de transition (complexes activés), en particulier l'énergie d'activation (voir p. 154). Dans ce but, on caractérise les énergies correspondant aux différents types de réactions chimiques.

B. INDICES STRUCTURAUX

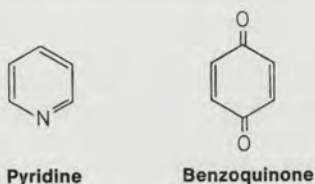
1. Charge électrique des atomes

La distribution des charges électriques entre les atomes constituant une molécule est particulièrement importante à connaître pour résoudre les problèmes en rapport avec le mécanisme des réactions chimiques.

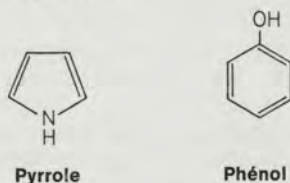
La détermination du moment des dipôles est basée sur la distribution des électrons π et sur la polarisation des liaisons σ .

Dans le cas des électrons π , les atomes constituant un système conjugué contribuent par un ou deux électrons au pool des électrons π de la molécule. Le carbone fournit toujours un seul électron π . En ce qui concerne l'azote et l'oxygène, ces éléments contribuent au pool commun

par un électron pi s'ils interviennent dans une double liaison (comme dans le cas de la pyridine ou de la benzoquinone).



Par contre si la liaison est simple, ces deux éléments fournissent deux électrons pi (pyrrole, phénol, etc.).



On définit alors la charge électrique d'un atome dans une molécule comme étant égale au nombre d'électrons pi que l'atome porte dans la molécule. La charge nette est égale à la différence entre la charge électrique et le nombre d'électrons pi que l'atome a fournis au pool d'électrons pi.

2. Indice de liaison mobile

Cet indice définit le caractère « double liaison » d'une liaison. Il dépend de la force de couplage des électrons pi entre atomes adjacents, ce qui détermine certaines propriétés de la liaison telles que la longueur de la liaison, l'énergie de la liaison, la constante de force et les fréquences de vibration. Cet indice a la valeur 0 dans le cas d'une liaison simple. On lui attribue la valeur 1 dans le cas de la liaison double. Une liaison entre deux atomes est d'autant plus courte et réactive que son indice de liaison mobile est voisin de 1.

3. Indice de valence libre

La détermination de cet indice permet d'évaluer le taux d'insaturation d'un atome, sa capacité de liaison pi qui n'est pas utilisée à l'intérieur de la molécule. Il correspond à la polarisabilité de l'atome en question vis-à-vis d'autres atomes ou groupes d'atomes et joue donc un rôle très important dans la théorie des réactions chimiques. Il est une mesure de l'aptitude d'un atome à réagir avec des radicaux libres.

IV. LES VALENCES SECONDAIRES

On a cru très longtemps que la liaison covalente représentait le seul type d'association des atomes. S'il est vrai que les atomes formant les petites molécules ou les monomères des architectures moléculaires des cellules, sont unis par covalence, il est toutefois certain que ce type de

liaison ne permet pas d'expliquer toutes les propriétés d'une cellule. La distribution des molécules au sein du volume déterminé par la cellule ne se fait pas au hasard et un problème important à résoudre est celui de déterminer les lois qui régissent cette distribution. La liaison par covalence ne peut être invoquée puisque les atomes unis par ce type de liaison appartiennent, par définition, à la même molécule. C'est pourquoi, on pense actuellement que l'arrangement des molécules dans la cellule est contrôlé par des forces interatomiques faibles, parfois appelées valences secondaires. Elles interviennent non seulement entre les atomes appartenant à des molécules différentes mais également entre certains atomes d'une même molécule. Les valences secondaires permettent ainsi d'expliquer pourquoi certaines molécules sont groupées les unes à côté des autres. Elles permettent également d'expliquer la structure tridimensionnelle d'une molécule flexible. La caractéristique la plus importante d'une liaison est sa force. La liaison covalente est dite forte parce que la variation d'énergie libre standard accompagnant sa rupture est positive et de l'ordre de 50 à 110 Kcal M⁻¹. L'application de l'équation (3-6) montre que la constante d'équilibre de la réaction aboutissant à la formation d'une liaison covalente aura une valeur élevée. Pour un ΔF° voisin de 100 Kcal M⁻¹ un seul atome sur 10⁴⁰ restera libre lorsque l'équilibre sera atteint. Au contraire les liaisons secondaires sont dites faibles parce que la variation d'énergie libre observée au cours de leur rupture est positive et de l'ordre de 1 à 7 Kcal M⁻¹.

En définissant les principales valences secondaires nous allons montrer comment leur caractère « faible » est une condition essentielle à l'existence de la cellule.

A. LES PRINCIPAUX TYPES DE LIAISONS FAIBLES

1. Les forces de Van der Waals

Toutes les molécules s'attirent l'une l'autre par suite de l'interaction mutuelle des électrons et des noyaux des atomes formant ces molécules (attraction électronique de Van der Waals).

Ce phénomène trouve son origine dans l'attraction électrostatique prenant naissance entre les noyaux des atomes d'une molécule et les électrons d'une autre molécule. Pour qu'il se manifeste, il faut évidemment que les molécules soient très près les unes des autres. Dans le cas d'une molécule monoatomique (gaz rares par exemple) la force d'attraction est inversement proportionnelle à la septième puissance de la distance (Fig. 4-1). Aux faibles distances, la force d'attraction est contrebalancée par la force de répulsion due à l'interpénétration des couches électroniques extérieures des molécules : c'est ce qu'on appelle le rayon de Van der Waals (Tableau 4-5).

La détermination du point d'ébullition fournit une indication sur la grandeur des forces de Van der Waals. Il est en effet une mesure de l'agitation moléculaire nécessaire pour vaincre les forces d'attraction. En général l'attraction électronique de Van der Waals s'accroît avec le poids moléculaire ; par conséquent les substances dont le poids moléculaire est élevé, auront un point d'ébullition élevé, et réciproquement. Cette généralisation est confirmée par l'expérience.

La variation d'énergie libre accompagnant la rupture d'une association moléculaire sous l'influence des forces de Van der Waals est voisine de 1 à 2 Kcal M⁻¹. Elle est donc à peine supérieure à l'énergie thermique moyenne des molécules à la température ordinaire (0.6 Kcal M⁻¹) ce qui signifie que l'attraction électronique de Van der Waals ne deviendra une

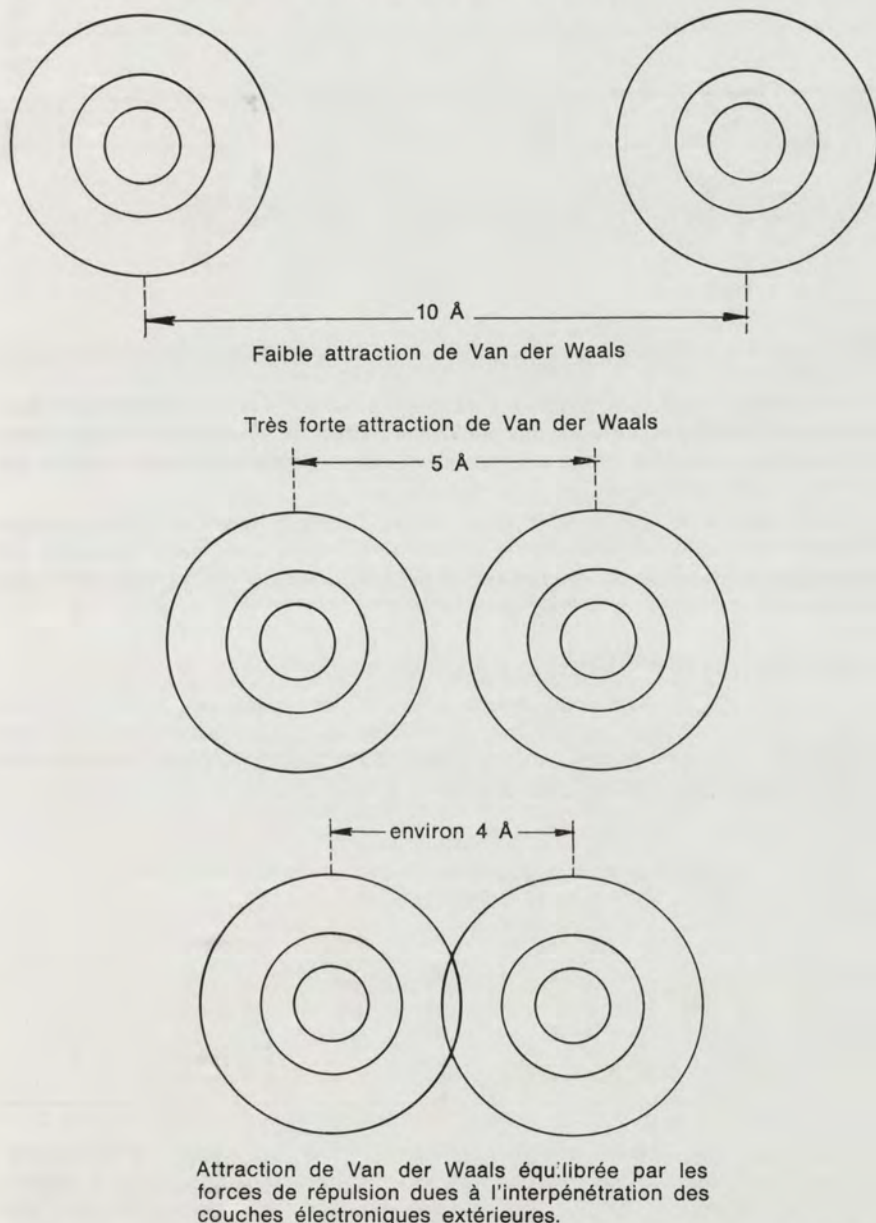


FIG. 4-1. Schéma montrant l'attraction de Van der Waals et la répulsion provenant de la distribution électronique dans les molécules monoatomiques d'argon (d'après Pauling, 1956, 1960).

force de liaison effective que dans le cas où plusieurs atomes d'une même molécule seront liés à plusieurs atomes d'une autre molécule. Dans ce cas seulement l'énergie d'interaction sera supérieure aux forces de répulsion résultant de l'agitation thermique.

Tableau 4-5
RAYON DE VAN DER WAALS DES ATOMES INTERVENANT DANS LES MOLÉCULES
D'IMPORTANCE BIOLOGIQUE
(d'après Watson, 1965)

Atome	Rayon, en Å
H	1.2
N	1.5
O	1.4
P	1.9
S	1.85
groupe CH ₃	2.0
demi-épaisseur d'une molécule aromatique	1.7

Toutefois pour que plusieurs atomes puissent former une liaison par attraction de Van der Waals, les molécules doivent avoir une configuration telle qu'elle permette un rapprochement des atomes intéressés, voisin de la somme de leur rayon de Van der Waals.

Une molécule possédant une cavité, complémentaire d'un groupe d'atomes en saillie sur une autre molécule, formera avec cette dernière un complexe dont l'énergie de liaison pourra être voisin de 10 Kcal M⁻¹. Le complexe aura donc une très grande stabilité.

2. La liaison hydrogène

La stabilité de certaines associations moléculaires est assurée grâce à l'existence d'un type particulier de liaison, la liaison hydrogène, qui est plus faible que les liaisons ioniques ou covalentes mais plus forte que les forces d'attraction de Van der Waals.

Tableau 4-6
LONGUEUR APPROXIMATIVE DE CERTAINES LIAISONS HYDROGÈNE
(d'après Watson, 1965)

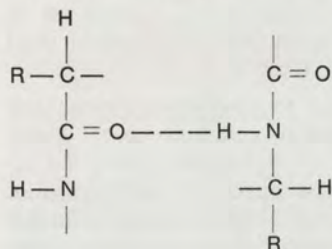
Liaison	Longueur, Å
O — H — — — O	2.70 ± 0.10
O — H — — — O ⁻	2.63 ± 0.10
O — H — — — N	2.88 ± 0.13
N — H — — — O	3.04 ± 0.13
N ⁺ — H — — — O	2.93 ± 0.10
N — H — — — N	3.10 ± 0.13

Ce type de liaison prend naissance entre un atome d'hydrogène chargé positivement, fixé par covalence à la molécule à laquelle il appartient et un atome accepteur, chargé négativement, qui est également fixé par covalence à une autre molécule. C'est ainsi que l'atome d'hydrogène du groupe imino (N — H) forme une liaison avec l'oxygène de la fonction cétonique (C = O).

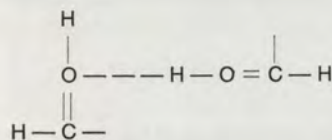
Ce type de liaison peut également exister entre les fonctions portant des charges unitaires : NH_3^+ et COO^- par exemple.

Dans les systèmes biologiques, la liaison hydrogène fait souvent intervenir des atomes d'hydrogène qui sont unis par covalence à l'oxygène ($\text{O}-\text{H}$) ; l'atome accepteur est alors soit l'azote, soit l'oxygène. L'énergie de la liaison varie entre 3 et 7 Kcal M^{-1} ce qui indique que la liaison hydrogène sera plus courte que la liaison de Van der Waals, mais plus longue que la liaison covalente (Tableau 4-6).

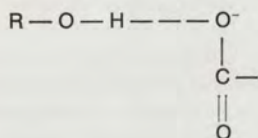
Voici quelques exemples de liaisons hydrogène fréquemment rencontrées dans les systèmes biologiques.



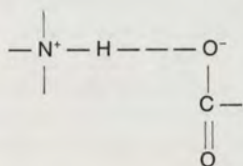
entre groupes peptidiques



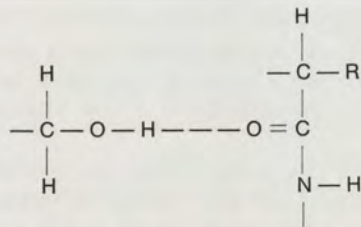
entre deux groupes hydroxyles



entre un groupe carboxyle chargé négativement et le groupe hydroxyle de la tyrosine



entre un groupe aminé et un groupe carboxyle chargés



entre un groupe hydroxyle de la sérine et un groupe peptidique

3. La liaison ionique

Les composés chimiques qui contiennent des ions doivent leur stabilité à la tendance de certains atomes à perdre des électrons et celle

d'autres atomes à en capter. Il se produit alors une forte attraction électrostatique entre les ions de signe opposé (liaison ionique) et une répulsion entre ions de même signe.

L'électron étant pris comme unité, la grandeur de la charge portée par un ion, est appelée sa valence ionique. Dans le chlorure de sodium, le sodium a une valence ionique + 1 et il est dit uni-positif ; le chlore a une valence ionique - 1 et il est dit uni-négatif.

Dans la formule du composé, la somme des valences ioniques doit être nulle.

Beaucoup de molécules organiques possèdent des groupes ioniques. Ces groupes sont neutralisés par des charges de signe opposé et la force d'attraction électrostatique détermine la formation d'une liaison dont l'énergie, en solution aqueuse, est voisine de 5 Kcal M⁻¹.

Les charges des molécules organiques sont souvent neutralisées par des ions inorganiques. Comme ces derniers sont toujours hydratés, c'est-à-dire entourés d'une ou de plusieurs couches de molécules d'eau, ils ne forment pas de liaison avec les charges de signe opposé. C'est pourquoi on considère qu'en solution aqueuse, l'attraction électrostatique prenant naissance entre des ions inorganiques et les charges d'une molécule organique, ne joue pas un rôle important dans la détermination de la forme de la molécule organique.

B. IMPORTANCE BIOLOGIQUE DES VALENCES SECONDAIRES

Comme dans le cas de la liaison par covalence, la formation des valences secondaires obéit aux lois de la thermodynamique. En conséquence une liaison ne se formera que si sa création a pour conséquence une libération d'énergie. Comme la formation d'une liaison covalente libère beaucoup d'énergie, sa rupture ne se fera pas spontanément. Au contraire les liaisons faibles sont constamment brisées et reformées à la température ordinaire (énergie cinétique = 0.6 Kcal M⁻¹ à 25 °C). La vie moyenne d'une liaison faible est d'ailleurs très courte et de l'ordre de la seconde, ce qui explique le fait que ce type de réaction ne nécessite pas de catalyseur (enzyme) pour s'effectuer à une vitesse appréciable.

La structure des solutions en général et du contenu cellulaire en particulier est largement déterminée par l'existence des valences secondaires.

L'eau est un solvant polaire c'est-à-dire que les molécules d'eau possèdent une structure électronique telle que les atomes d'hydrogène ont une charge électrique positive alors que l'atome d'oxygène a une charge négative.

Les atomes H et O forment d'autre part des liaisons hydrogène avec les atomes H et O d'autres molécules d'eau. Chaque molécule d'eau s'entoure ainsi de quatre autres molécules d'eau qui lui sont fixées par des liaisons hydrogène. Il en résulte la formation d'un réseau de tétraèdres qui confère une structure très particulière à l'eau (qu'elle soit à l'état liquide ou à l'état solide) et explique la plupart de ses propriétés. La proportion des arrangements moléculaires, associés par des valences

secondaires, est donnée par l'équation 3-6. Pour un ΔF° de 2 à 3 Kcal M⁻¹, on peut calculer qu'à température ordinaire, la plupart des molécules sont associées par des liaisons faibles.

La perte d'énergie libre associée à la formation d'une liaison hydrogène est plus grande que dans le cas d'une liaison de Van der Waals. En conséquence la liaison hydrogène se fera de préférence à la liaison de Van der Waals. C'est ce qui explique le fait que seules les molécules pouvant établir des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau sont solubles dans ce solvant.

Les molécules dites hydrophobes (benzène, chaînes aliphatiques, etc.) sont insolubles dans l'eau parce que les molécules d'eau forment entre elles des liaisons hydrogène, alors que les molécules hydrophobes sont associées par des liaisons de Van der Waals. Comme il n'y a pas de liaisons hydrogène établies entre les molécules d'eau et les molécules hydrophobes, il est impossible d'insérer ces dernières dans le réseau formé par les molécules d'eau et les deux espèces moléculaires restent ainsi séparées en deux phases homogènes.

Par contre les molécules dites hydrophiles sont capables de former des liaisons hydrogène avec l'eau. En conséquence en rompant la liaison existant entre deux molécules d'eau, elles sont capables de s'insérer dans le réseau de molécules d'eau et de réorganiser la structure du solvant par la formation de nouvelles liaisons hydrogène. Toutefois comme du point de vue énergétique ce nouvel arrangement est moins favorable que celui du solvant pur, la « solubilité » des molécules hydrophiles est limitée.

La structure spécifique d'une solution dépendra évidemment du soluté (forme des molécules, surfaces complémentaires, types de liaisons secondaires pouvant être formées, etc.). La formation de liaisons faibles entre les molécules d'une solution confère à cette dernière une structure. Il ne s'agit toutefois pas d'un système statique.

L'agitation thermique change continuellement la configuration de la solution qui passe ainsi d'un type d'arrangement à un autre ayant approximativement le même contenu énergétique. Dans un système biologique un autre facteur important doit être pris en considération et c'est le métabolisme qui, changeant continuellement la nature des molécules en solution, modifie automatiquement la nature des liaisons secondaires qui peuvent être formées.

La formation de liaisons secondaires entre des molécules en solution exige la présence de surfaces complémentaires, selon le principe de la clé et de la serrure : on doit avoir sur une molécule, une cavité complémentaire à un groupe se trouvant en saillie sur une autre molécule. Outre la complémentarité des surfaces, il faut également considérer le fait que la formation d'une liaison faible entre deux molécules doit aussi permettre la formation de liaisons hydrogène avec les molécules du solvant. Ces considérations permettent d'expliquer pourquoi les formes L des acides aminés sont sélectionnées de préférence aux formes D, dans de nombreux processus biologiques et notamment la synthèse des protéines.

La formation du complexe enzyme-substrat, la spécificité des réactions enzymatiques et la configuration des macromolécules trouvent également leur interprétation dans l'existence de liaisons secondaires spécifiques établies entre molécules en solution et molécules du solvant.

A CONSULTER

- PAULING, L., Chimie générale. 2^e édit. Dunod, Paris, 1956.
- PAULING, L., The nature of the chemical bond. 3rd edit., Cornell Univ. Press, Ithaca, N. Y., 1960.
- PULLMAN, B., La biochimie électronique. Presses Univ. de France, Paris, 1963.
- PULLMAN, B. et PULLMAN, A., Quantum biochemistry. Interscience Publishers, New York, 1963.
- WATSON, J. D., Molecular biology of the gene. W. A. Benjamin, Inc., New York, Amsterdam, 1965.
- Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 1. Academic Press, New York, 1960.
- Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 1. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1962.

CHAPITRE 5

Hétérocycliques naturels

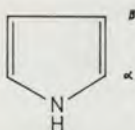
I. Dérivés du pyrrole	49
II. Dérivés de la pyrrolidine	53
III. Dérivés de l'indole	54
IV. Dérivés de l'imidazole	55
V. Dérivés du thiazole	56
VI. Acide thioctique	56
VII. Dérivés de noyaux hétérocycliques hexagonaux oxygénés	56
VIII. Dérivés de la pyridine	60
IX. Dérivés de la pyrimidine	61
A. Pyrimidines	62
B. Thiamine	62
X. Dérivés de la purine	63

XI. Dérivés de l'alloxazine	65
XII. Dérivés de la ptéridine	66
A. Acide folique	67
B. Riboflavine	67
XIII. Nucléosides	68
XIV. Nucléotides	69
A. Mononucléotides	69
1. Monophosphate et polyphosphates d'adénosine	69
2. Uridine-phosphates	71
3. Uridine-diphosphate-glucose	71
4. Flavine-mononucléotide (flavine-monophosphate)	71
5. Mononucléotide de nicotinamide (MNN)	72
B. Dinucléotides	72
1. Nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) et nicotinamide- adénine-dinucléotide-phosphate (NADP)	72
2. Flavine-adénine-dinucléotide (FAD)	73
XV. Coenzyme A (CoA)	74
XVI. Cyanocobalamine (vitamine B ₁₂)	75

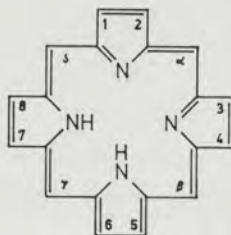
Comme nous l'avons déjà signalé, toutes les molécules d'intérêt biochimique présentent le phénomène de délocalisation électronique. Parmi les plus représentatives on peut citer les acides nucléiques, les coenzymes, les protéines et les phosphates « riches en énergie ». Ces différentes catégories seront examinées en détail dans des chapitres ultérieurs. Ce ne sont toutefois pas les seuls représentants conjugués importants des cellules. Les ptéridines, les porphyrines, les pigments biliaires, les quinones, les caroténoïdes, les rétinènes, les mélanines, etc. sont des constituants importants des biomolécules et qui appartiennent également à la même catégorie des molécules conjuguées. Dans les pages qui suivent nous examinerons les hétérocycliques naturels en mettant l'accent sur les caractères que leur confère la délocalisation électronique dont ils sont le siège.

I. DÉRIVÉS DU PYRROLE

Parmi les corps hétérocycliques de la chimie organique, ceux qui appartiennent au groupe du pyrrole présentent un intérêt particulier pour le biochimiste. Le pyrrole lui-même, C_4H_4NH , est depuis un siècle connu comme un des produits de la distillation sèche de la matière vivante. Son importance biologique est très grande. Il suffira de dire que de l'indole ou phénopyrrole dérivent l'indoxyle et l'indigo, qu'on trouve en abondance dans les plantes des bases pyrroliques et que le tryptophane contient un noyau indole. Une catégorie particulière de dérivés du pyrrole, les porphyrines, présentent un grand intérêt par leur large distribution dans la biosphère, sous des formes libres ou sous des formes combinées. Les porphyrines cristallisent facilement, ont un point de fusion très élevé et présentent une vive fluorescence sous l'action des rayons ultra-violets.



Pyrrole



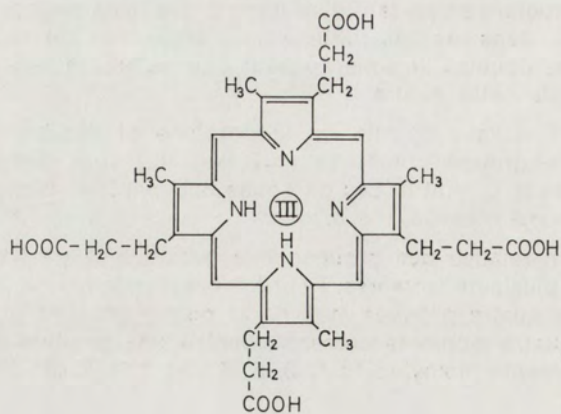
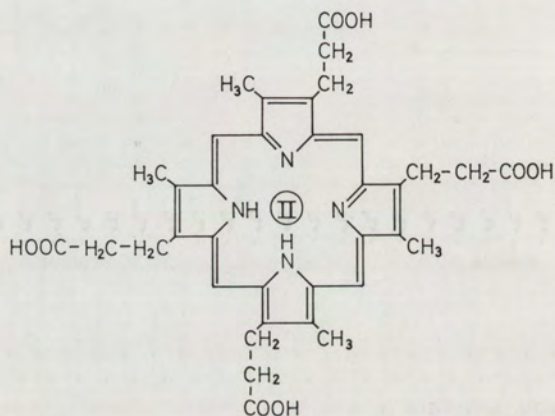
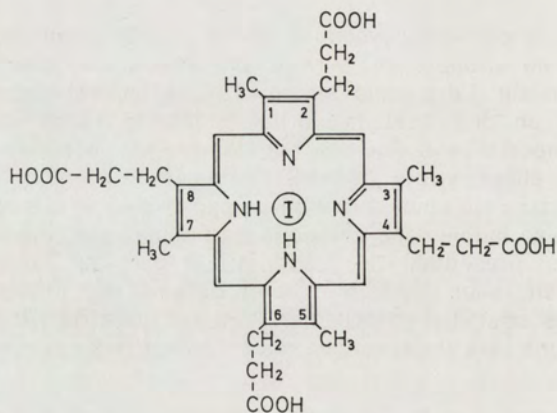
Porphine

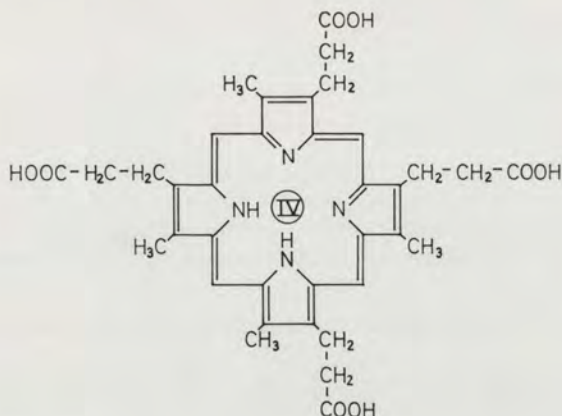
Leur pouvoir colorant étant extrêmement grand, l'analyse spectroscopique permet de déceler des quantités très faibles de porphyrines. Ce sont des molécules contenant quatre noyaux pyrrole et on peut schématiser leur structure en partant d'un tétrapyrrole hypothétique, la porphine, que complique, dans les cas particuliers, l'adjonction de radicaux divers. La position des doubles liaisons ne peut être qu'arbitrairement fixée dans une structure de cette nature.

Les quatre noyaux pyrrole de la porphine et des porphyrines sont reliés par des groupes méthène ($=CH-$) qui sont désignés par les lettres grecques α , β , γ et δ . Les carbones occupant les bases des noyaux pyrrole sont numérotés de 1 à 8.

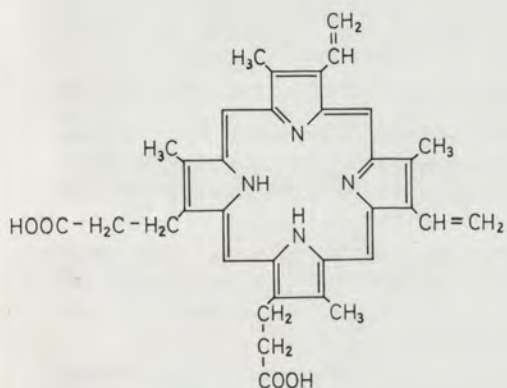
La position relative des groupements substituants peut donner lieu à l'existence de plusieurs isomères. Pour les coproporphyrines, dont le noyau porphine porte quatre groupes méthyle et quatre groupes propioniques, il peut exister quatre isomères correspondant à une position différente des quatre groupements méthyle : I : 1, 3, 5, 7 ; II : 1, 4, 5, 8 ; III : 1, 3, 5, 8 ; IV : 1, 4, 6, 7.

Ces quatre isomères sont les suivants :

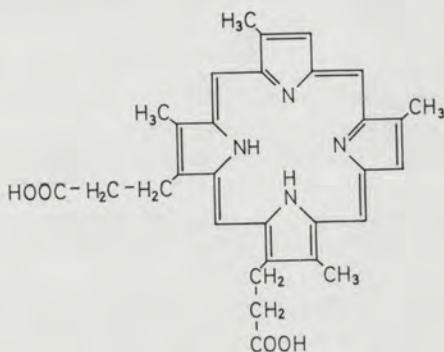




La coproporphyrine I se trouve dans la levure, et les coproporphyrines I et III ont été isolées des matières fécales, d'où leur nom.



Protoporphyrine



Deutéroporphyrine III

Dans les protoporphyrines, les huit atomes de carbone de la porphine portent deux groupes vinyle, quatre groupes méthyle et deux groupes propioniques. L'un des quinze isomères de cette structure est la protoporphyrine IX ou acide porphine-1, 3, 5, 8-tétraméthyl-2, 4-divinyl-6, 7-dipropionique, communément nommée protoporphyrine. C'est la porphyrine la plus répandue chez les êtres vivants.

Au cours de la putréfaction, la protoporphyrine perd ses chaînes latérales non saturées et est transformée en deutéroporphyrine III.

Dans la nature, on ne trouve que de très petites quantités de porphyrines à l'état libre. La plupart d'entre elles se trouvent sous forme de complexes métalliques, dans lesquels l'atome de métal remplace les deux atomes centraux d'hydrogène et est également lié aux quatre atomes d'azote. Le complexe porphyrine-fer constitue le groupe prosthétique d'une série d'hémoprotéines comprenant en particulier :

- a) l'hémoglobine ;
- b) les cytochromes ;
- c) certains enzymes (catalase, peroxydase).

Dans ces différents cas, c'est la protoporphyrine IX qui est utilisée. Le complexe porphyrine-magnésium constitue la chlorophylle, le pigment vert des plantes responsable de la photosynthèse. Dans le cas de la vitamine B₁₂, la porphyrine se trouve sous forme de complexe avec le cobalt.

Les caractéristiques électroniques essentielles du noyau porphine sont les suivantes :

- a) énergie de résonance élevée (160 Kcal M^{-1}) soit environ 6 Kcal par électron pi ;
- b) capacité de recevoir ou de donner des électrons ;
- c) présence de charges électroniques nettes positives et négatives à la périphérie de la molécule : les carbones β des noyaux pyrrole, c'est-à-dire les carbones pairs de la porphine, portent un excès d'électrons pi, alors que le carbone des ponts méthène est appauvri en électrons ;
- d) la valence libre maximum est localisée au carbone des ponts méthène.

Certaines de ces caractéristiques peuvent être dans une certaine mesure modifiées dans les dérivés naturels substitués. Les indices énergétiques et structuraux n'ont pas encore été calculés pour toutes les espèces moléculaires intéressant le biochimiste.

Dans le cas des complexes avec les ions métalliques, il est intéressant de rechercher les indices en question afin de déterminer les orbitales moléculaires qui peuvent s'établir entre les orbitales électroniques du noyau porphyrine et celle du métal.

En général, les complexes de coordination d'importance biochimique sont du type dans lequel l'atome métallique est entouré du ligand (*) en formant un complexe carré ou octaédrique. Le complexe fer-porphyrine est essentiellement de ce dernier type. La coordination se fait non seulement avec les quatre atomes d'azote occupant le centre de la molécule de porphyrine mais aussi implique deux groupes localisés de part et d'autre du plan du complexe. Ces groupes supplémentaires peuvent être d'autres substances azotées (pyridine, imidazole). L'étude de la structure électronique de ces complexes permet de définir deux types fondamentaux :

- 1) les complexes ioniques caractérisés par la présence d'un grand nombre d'électrons non appariés (quatre dans les complexes ferreux et cinq dans les complexes ferriques). A cette catégorie appartiennent l'hémoglobine et la myoglobine ;
- 2) les complexes covalents, qui n'ont pas d'électrons célibataires (cytochrome c ferreux) ou n'en ont qu'un (cytochrome c ferrique).

(*) Ce terme désigne tout ion ou molécule directement fixé à un atome métallique.

Dans le cas des complexes ioniques, le métal cationique joue le rôle d'accepteur d'électrons dans son interaction avec le ligand, alors que dans le cas des complexes covalents, il est un donneur d'électrons (électrons π). Dans les complexes covalents ferreux, la distribution des orbitales (*phoo* et *pbo*) est bien différente de celle des complexes ioniques et les caractéristiques de cette distribution sont telles que ces complexes ont des propriétés de donneur d'électrons particulièrement marquées (*phoo* très élevée). Dans le cas des complexes covalents ferriques, la situation est à première vue la même. Il y a toutefois une différence essentielle : une ferriporphyrine covalente possède seulement trois électrons occupant les deux *phoo*. Une de ces orbitales est donc à moitié remplie et comme elle peut accepter un électron elle doit être considérée comme représentant une *pbo*. Cette orbitale confère à la molécule un pouvoir accepteur d'électrons très prononcé.

La signification biochimique de ces résultats deviendra plus claire lorsque nous discuterons le rôle des cytochromes dans la chaîne respiratoire. Qu'il nous suffise simplement de signaler que la structure électronique des porphyrines et de ses complexes métalliques est telle que nous avons affaire à des molécules très stables. La multiplicité des propriétés de ces molécules provient de l'adjonction à un squelette stable (le noyau porphine) de groupes d'atomes avec, pour conséquence, une réorganisation de la structure électronique conférant ainsi à l'ensemble de nouvelles propriétés. La sélection de ce squelette stable pour réaliser des molécules ayant des propriétés très différentes et très largement répandues dans la nature, semble indiquer une formation précoce.

On sait, en ce qui concerne la chlorophylle, que d'autres pigments auraient pu être utilisés, avec la même efficacité que les porphyrines. Si les porphyrines occupent cette situation prépondérante, c'est en raison même de leur stabilité.

II. DÉRIVÉS DE LA PYRROLIDINE

La pyrrolidine est le noyau saturé correspondant au pyrrole.

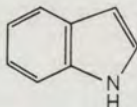


Pyrrolidine

On la trouve dans des molécules universellement répandues dans la biosphère, comme la proline, la vitamine B₁₂, dans la nicotine et d'autres alcaloïdes, etc.

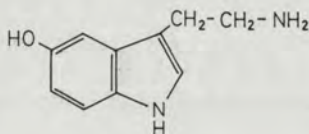
III. DÉRIVÉS DE L'INDOLE

L'indole est le noyau dont est dérivé le tryptophane.



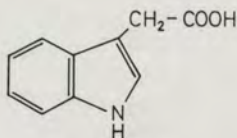
Indole

De nombreuses substances ayant une action pharmacodynamique très prononcée, comme l'iproniazide, la réserpine, la chlorpromazine, la diéthylamide de l'acide lysergique sont, en général, considérées comme étant les antimétabolites interférant avec le métabolisme normal du tryptophane (ou de certains dérivés : acide nicotinique, sérotonine, etc.). Ces antimétabolites, qui tous contiennent le noyau indole, sont supposés agir en occupant les récepteurs dévolus aux métabolites normaux. L'action pharmacologique pourrait être expliquée sur la base de l'hypothèse suivant laquelle ils participeraient à la formation de complexes, avec les récepteurs appropriés impliquant des transferts de charges. Le puissant tranquillisant qu'est la chlorpromazine est en effet un excellent donneur d'électrons ayant une *phoo* située exceptionnellement haut.



Sérotonine

La sérotonine, trouvée normalement dans le cerveau des mammifères est nécessaire au maintien du métabolisme de la cellule nerveuse. On attribue l'origine de certaines maladies mentales (la schizophrénie par exemple) à un trouble du métabolisme de cette substance. Le calcul de l'énergie de la *phoo* montre que cette molécule est un meilleur donneur d'électrons que le tryptophane.



Hétérauxine

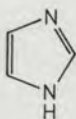
Un autre dérivé important du noyau indole, produit au cours du métabolisme du tryptophane, est l'acide α -indolacétique. Il s'agit de l'hétérauxine, substance retirée de la levure, existant aussi dans l'urine humaine

et possédant une activité d'auxine en ce qui concerne la croissance des végétaux.

Beaucoup d'autres molécules ayant les mêmes propriétés sont connues et sont rangées sous la dénomination de phytohormones ou auxines. Bien qu'on n'ait pas encore effectué des recherches en ce qui concerne la structure électronique des auxines dérivées de l'acide indolacétique, on a pourtant proposé certaines corrélations entre la structure électronique et l'activité sur la croissance des végétaux de certains dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide naphtoïque.

IV. DÉRIVÉS DE L'IMIDAZOLE

Le noyau pentagonal de l'imidazole, qui contient deux atomes d'azote, se trouve dans un acide aminé naturel, l'histidine.



Imidazole

Une des propriétés importantes du noyau imidazole est la présence d'un azote tertiaire (pyrimidique) et d'un azote secondaire (pyrrolique). Le premier de ces deux azotes qui contribue avec un électron π au pool des électrons mobiles du système porte dans la molécule une charge négative. Il constitue donc un centre important d'attaque électrophilique : combinaison avec un proton, complexe avec un métal (en particulier dans l'histidine en relation avec la fonction NH_2 et déterminant la formation d'une liaison puissante), formation de pont hydrogène et de complexe ammonium quaternaire transitoire. Le deuxième de ces azotes aura comme propriété de pouvoir remplacer son proton par d'autres groupes tels que l'acétyle ou le phosphoryle.

Grâce à cette propriété consistant en la possibilité d'une interconversion mutuelle de ces deux azotes, on peut comprendre les propriétés biochimiques du noyau imidazole et plus particulièrement la formation de dérivés hautement énergétiques et le rôle de site actif dans la fonction catalytique des enzymes de l'hydrolyse. En effet en milieu acide, l'azote tertiaire est protoné, la possibilité de la délocalisation électronique est accrue et les deux azotes deviennent indistinguibles.

L'imidazole peut aussi réagir comme une base au niveau de l'azote « pyrimidique », réaction suivie d'une dissociation du proton à partir de l'azote « pyrrolique » ainsi labilisé. Ces propriétés seront discutées plus en détail dans les chapitres appropriés.

V. DÉRIVÉS DU THIAZOLE

Ce noyau pentagonal azoté et sulfuré fait partie, associé au noyau pyrimidine, du pyrophosphate de thiamine, qui est un important coenzyme.

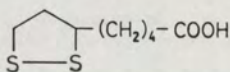


Thiazole

L'importance de l'atome de soufre dans la détermination de la structure électronique du noyau, en relation avec l'action catalytique des molécules dans lesquelles il intervient, sera discutée au chapitre des coenzymes.

VI. ACIDE THIOCTIQUE

Un autre noyau hétérocyclique sulfuré important est celui de l'acide 6,8-dithio-n-octanoïque qu'on appelle aussi acide thioctique ou acide α -lipoïque.



Acide thioctique (lipoïque)

Ce corps, important coenzyme de la décarboxylation oxydative (voir chapitres 12 et 14) agit par l'ouverture et la fermeture de son cycle à deux atomes de soufre.

VII. DÉRIVÉS DE NOYAUX HÉTÉROCYCLIQUES HEXAGONAUX OXYGÉNÉS

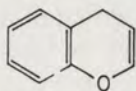
Les principaux noyaux de cette série sont ceux du pyran, du chroman



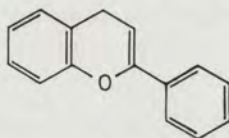
Pyran

et du flavan. Le noyau pyran est le noyau de base des oses sous leurs formes stables.

Les dérivés du chroman qui portent le nom de tocophérols sont très

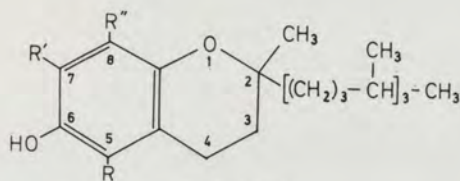


Chroman



Flavan

largement répandus dans la biosphère. Ils ont la structure générale suivante :



Tocophérols

Le dérivé non substitué dans lequel $R = R' = R'' = H$, porte le nom de tocol. Les tocophérols naturels sont des dérivés mono-, di- ou tri-méthylés du tocol (Tableau 5-1).

Le dérivé α est celui qui est le plus abondant dans les tissus animaux, c'est pourquoi il est considéré comme le prototype de la vitamine E. Sa déficience s'accompagne, chez le mammifère, de dystrophie musculaire et de stérilité.

Tableau 5-1

NOMENCLATURE DES TOCOPHÉROLS

α -tocophérol	5, 7, 8-triméthyltolcol
β -tocophérol	5, 8-diméthyltolcol
γ -tocophérol	7, 8-diméthyltolcol
δ -tocophérol	8-méthyltolcol
ϵ -tocophérol	5-méthyltolcol
ζ -tocophérol	7-méthyltolcol
η -tocophérol	5, 7-diméthyltolcol

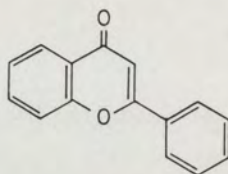
Bien que le rôle métabolique de la vitamine E ne soit pas encore bien précisé, on considère en général qu'elle exerce une action à deux niveaux :

- un rôle possible d'agent antioxydant, protégeant à l'intérieur de la cellule, les graisses et autres substances sensibles à l'oxygène ;
- un rôle possible dans la chaîne respiratoire et peut-être aussi dans les phosphorylations associées aux transferts d'électrons.

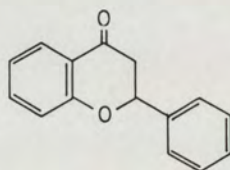
L'action antioxydante a été mise en rapport avec le potentiel d'oxydation de ces substances. Ceci implique la migration d'un électron du phénol à l'oxydant suivie de la migration d'un proton. Cette situation permet de

supposer qu'il doit y avoir une relation entre pouvoir antioxydant et niveau de *phoo*, ce qui a été confirmé expérimentalement.

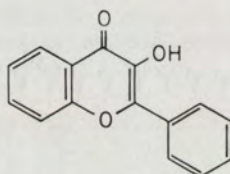
Il existe chez les végétaux, une série de pigments jaunes, les anthoxanthines, issus de noyaux dérivés du flavan, la flavone, le flavonol et la flavanone.



Flavone

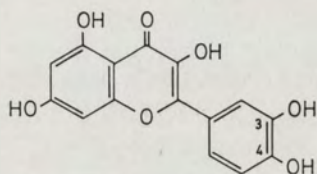


Flavanone

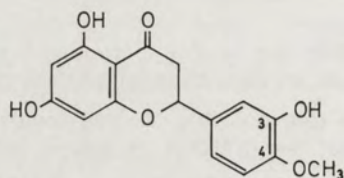


Flavonol

Ces dérivés sont généralement, dans la nature, hydroxylés sur différents cycles pour donner des dérivés comme la quercétine, dérivé de flavonol qu'on trouve, en combinaison avec du glucose (quercitrine) dans de nombreux végétaux, et l'hespérétine, dérivé de flavanone, qu'on trouve dans le citron sous la forme d'un glucoside, l'hespéridine.



Quercétine

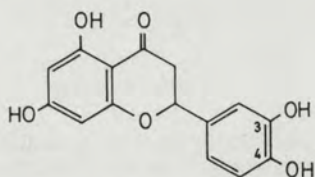


Hespérétine

Les dérivés de cette nature interviennent comme substances fonctionnelles dans un type du transfert de l'hydrogène métabolique chez les

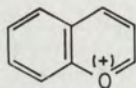
végétaux. Dans ce système, le peroxyde d'hydrogène formé par la combinaison de l'hydrogène avec l'oxygène, oxyde en présence de peroxydase le dérivé flavonique. Ce dernier oxyde à son tour une molécule d'acide ascorbique.

Cette fonction n'est exercée que par les dérivés ayant deux hydroxyles en 3 et 4 dans le cycle 3, comme c'est le cas pour la quercétine et la quercitrine, dans laquelle le glucose est combiné aux groupements OH du cycle 1. L'hespérétine est inactive, mais dans le citron, lors de la maturation, il s'opère une déméthylation de l'hespérétine, donnant naissance à l'ériodictyol, et c'est le glucoside de cette dernière substance qu'on trouve surtout dans le citron mûr.



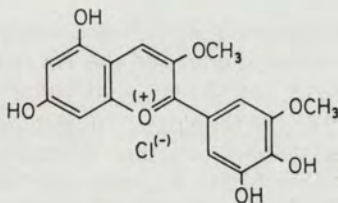
Eriodictyol

Les anthocyanes, pigments bleus, rouges ou violets de certaines fleurs, sont des glucosides dérivés de noyaux hétérocycliques hexagonaux oxygénés. Leurs aglucones (portions non glucidiques) ou anthocyanidines sont des dérivés hydroxylés du noyau benzopyrillium :



Benzopyrillium

dans lequel l'oxygène est l'atome central d'un ion complexe monovalent au sein duquel son indice de coordination est égal à trois. Certaines anthocyanidines ont une constitution voisine de celle de la flavone.

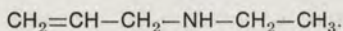


Chlorure d'œnine

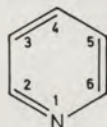
C'est par exemple le cas pour l'œnine, anthocyanidine de la pelure du raisin noir.

VIII. DÉRIVÉS DE LA PYRIDINE

Le plus simple des hétérocycliques hexagonaux azotés est la pyridine. Elle prend naissance par cyclisation de l'éthylallylamine, suivie de déshydrogénation

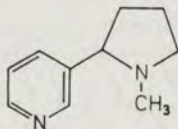


Sa formule est la suivante :

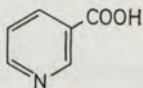


Pyridine

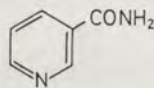
On la trouve dans les produits de la distillation des os et de la houille. Elle se comporte comme le noyau benzénique vis-à-vis de l'halogénéation, de la nitration et de la sulfonation, mais les réactions sont beaucoup plus lentes. C'est le noyau d'un groupe important d'alcaloïdes, parmi lesquels la nicotine qui est, dans la feuille de tabac, combinée aux acides malique et citrique, et qui, par oxydation, donne l'acide nicotinique



Nicotine
(méthyl-pyrrolidine-pyridine)



Acide nicotinique

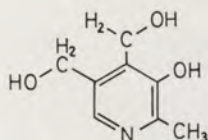


Amide de l'acide nicotinique
(nicotinamide)

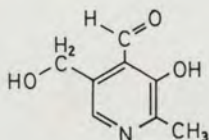
L'amide de l'acide nicotinique, ou nicotinamide, est une substance de très haute importance biologique, car elle est le groupement qui confère leur activité à une série de coenzymes d'utilisation générale.

C'est un des produits terminaux possibles du métabolisme du tryptophane. Bien que l'atome d'azote contribue par un électron pi au pool des électrons mobiles, il porte toutefois dans la molécule un excès de ces électrons. Il est donc négatif et la charge électrique nette est donnée par la différence existant entre le nombre d'électrons pi qu'il a reçus et l'électron pi qu'il a donné. En conséquence, cet atome d'azote représente le centre principal de réactivité vis-à-vis des agents électrophiliques. Les réactions les plus importantes seront donc celles de protonation et d'alkylation.

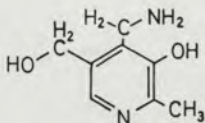
Un groupe d'autres dérivés importants de la pyridine est celui de la pyridoxine (connue aussi sous le nom de vitamine B₆ parce qu'elle est un facteur de croissance pour le rat et pour certaines bactéries) et de ses parents le pyridoxal et la pyridoxamine. Ces substances sont très répandues dans la biosphère



Pyridoxine
(vitamine B₆)

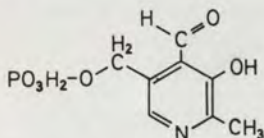


Pyridoxal

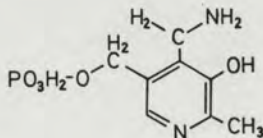


Pyridoxamine

Le pyridoxal-3-phosphate et le pyridoxamine-3-phosphate sont d'importants coenzymes. Le premier intervient dans la décarboxylation des acides aminés, dans les transaminations, dans les désaminations d'hydroxyaminoacides et dans la désulfuration des acides aminés.



Pyridoxal-3-phosphate

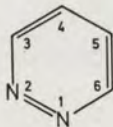


Pyridoxamine-3-phosphate

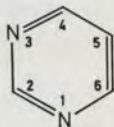
Les réactions catalysées par le pyridoxal-phosphate sont donc extrêmement variées. Elles sont toutefois caractérisées par des transformations électroniques d'une relative simplicité et analogues dans tous les cas. Nous les examinerons en détail dans le chapitre des coenzymes.

IX. DÉRIVÉS DE LA PYRIMIDINE

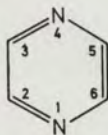
La pyrimidine est un noyau hétérocyclique à deux atomes d'azote. C'est une des trois diamines isomères :



Pyridazine



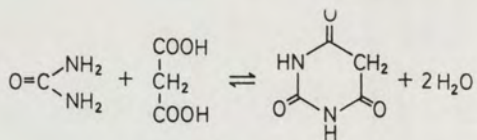
Pyrimidine



Pyrazine

Les dérivés pyrimidiques sont, pour le chimiste organicien (mais non pour le biochimiste), des produits de la condensation de l'urée avec des

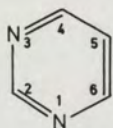
acides. L'acide barbiturique ou cyclomalonylurée est un corps de cette famille. On le prépare en faisant agir de l'acide malonique sur l'urée en présence de Cl_3OP .



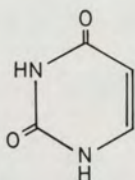
Urée Acide malonique Acide barbiturique

A. PYRIMIDINES

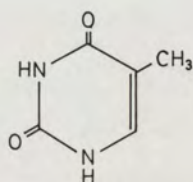
Parmi les oxypyrimidines ⁽¹⁾ on trouve une série de constituants importants des acides nucléiques, la cytosine, l'uracile et la thymine.



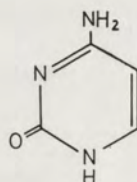
Pyrimidine



Uracile
(2,4-dioxy-pyrimidine)



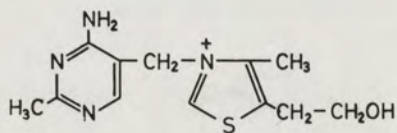
Thymine
(2,4-dioxy-5-méthyl-pyrimidine)



Cytosine
(2-oxy-4-amino-pyrimidine)

B. THIAMINE

C'est le chlorhydrate d'une molécule dérivée de pyrimidine et d'un noyau thiazole. Son ester phosphorique est un important coenzyme d'utilisation générale

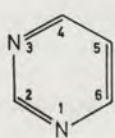


Thiamine

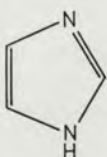
⁽¹⁾ Leurs formules, comme aussi d'ailleurs celles des oxypurines, peuvent également s'écrire sous la forme hydroxy-.

X. DÉRIVÉS DE LA PURINE

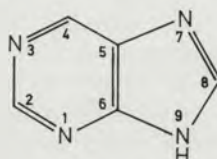
Le noyau de la purine résulte de la condensation d'un noyau pyrimidine avec un autre noyau hétérocyclique, l'imidazole.



Pyrimidine



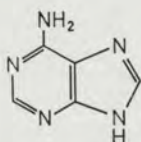
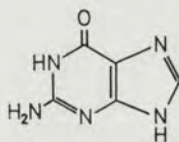
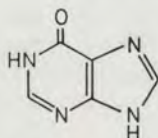
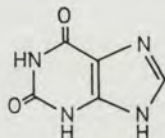
Imidazole



Purine

La purine cristallise en aiguilles blanches fondant à 217° , solubles dans l'eau et dans l'alcool. Elle donne des sels avec les acides et des dérivés métalliques avec les bases. Elle se comporte donc comme une base et comme un acide.

Plusieurs dérivés de la purine sont d'utilisation générale dans la biosphère

Adénine
(4-aminopurine)Guanine
(2-amino-4-oxypurine)Hypoxanthine
(4-oxypurine)Xanthine
(2,4-dioxypurine)

La synthèse *de novo* des purines à partir de constituants simples (voir p. 438) représente la formation de liaisons C-N dépendant de la fourniture d'énergie par des composés phosphorylés. Huit liaisons de ce type sont établies au cours de la formation de l'hypoxanthine, le premier anneau purine à être formé par cette voie synthétique. Sept de ces liaisons sont formées grâce à l'hydrolyse d'une « liaison riche » (ATP, par exemple), ce qui représente une dépense de 56 Kcal M^{-1} environ.

Le gain d'énergie de résonance associé à cette synthèse, calculé par Pullman et Pullman par la méthode des orbitales moléculaires, est de 3.4β , ce qui représente pour une valeur approximative de $\beta = 16 \text{ Kcal M}^{-1}$ environ 54 Kcal M^{-1} compensant la perte d'énergie utilisée pour la synthèse.

Les tableaux 5-2 et 5-3 donnent d'autre part les valeurs de certains indices énergétiques des purines et pyrimidines d'importance biologique.

Une corrélation intéressante paraît pouvoir être établie entre la valeur de l'énergie de résonance par électron pi et la stabilité des molécules considérées lorsqu'on les soumet à l'action des radiations ionisantes ou ultra-violettes. L'ordre expérimental de résistance à ces différentes radiations est

adénine > guanine > cytosine > thymine

ordre qui correspond à celui trouvé lorsqu'on considère l'incrément de stabilité que confère l'énergie de résonance. Cette stabilisation thermodynamique a certainement joué un rôle non négligeable au cours de l'évolution aboutissant ainsi à la sélection de ces types moléculaires dans les processus biochimiques.

Tableau 5-2

ÉNERGIES DE RÉSONANCE DES PURINES ET PYRIMIDINES D'IMPORTANCE BIOLOGIQUE (en unités β ; en première approximation on peut considérer qu'une unité β est égale à 16 Kcal M⁻¹)
(d'après Pullman et Pullman, 1963)

Composé	Energie de résonance	Nombre d'électrons pi	Energie de résonance par électron pi
Adénine	3.89	12	0.32
Guanine	3.84	14	0.27
Hypoxanthine	3.39	12	0.28
Xanthine	3.48	14	0.25
Acide urique	3.37	16	0.21
Cytosine	2.28	10	0.23
Uracile	1.92	10	0.19
Thymine	2.05	12	0.17
5-méthylcytosine	2.41	12	0.20
Acide orotique	2.35	14	0.17
Acide barbiturique	1.74	12	0.15

En ce qui concerne l'énergie des orbitales moléculaires, les résultats théoriques du tableau 5-3 indiquent que le pouvoir donneur d'électrons des purines est supérieur à celui des pyrimidines puisque les *phoo* des purines sont placées plus haut que celles des pyrimidines. Les purines,

Tableau 5-3

INDICES ÉNERGÉTIQUES DES ACIDES NUCLÉIQUES (en unités β)
(d'après Pullman et Pullman, 1963)

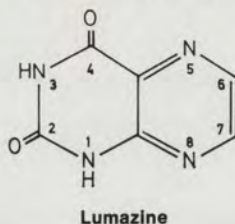
Composé	Energie <i>phoo</i>	Energie <i>pboi</i>
Adénine	0.486	— 0.865
Guanine	0.307	— 1.050
Thymine	0.510	— 0.958
Cytosine	0.595	— 0.795
paire A-T	0.424	— 0.874
paire G-C	0.308	— 0.781

contrairement aux pyrimidines, manifestent effectivement une tendance à former des complexes de transfert de charges avec différents accepteurs d'électrons. Quant à l'énergie de la *pboi*, les calculs montrent que le pouvoir accepteur d'électrons de la cytosine et de l'adénine doit être supérieur à celui de la guanine et de la thymine, ce que confirme l'expérience.

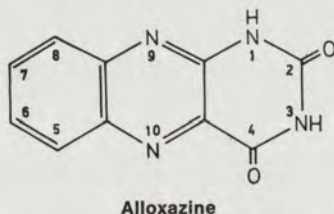
Ces résultats, associés à ceux obtenus en considérant les valeurs des indices structuraux des bases hétérocycliques des acides nucléiques, permettent de lier les propriétés chimiques essentielles de ces macromolécules aux indices électroniques de leur structure. Une telle analyse permet donc une meilleure compréhension du mécanisme des réactions mettant en jeu les acides nucléiques et qui sont examinées dans le chapitre 16.

XI. DÉRIVÉS DE L'ALLOXAZINE

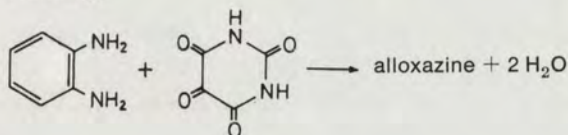
Le noyau double hétérocyclique appelé lumazine,



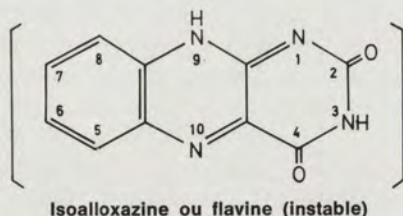
condensé avec un noyau benzène, donne naissance au noyau de l'alloxazine :



qu'on connaît depuis un demi-siècle et qu'on sait depuis longtemps synthétiser par la condensation d'une *o*-diamine aromatique avec l'alloxane (synthèse de Kühling).



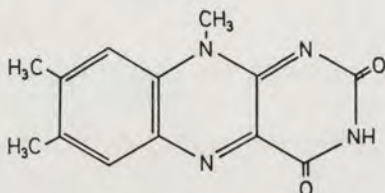
Ce fut le grand mérite de Richard Kuhn et de ses collaborateurs, et



ensuite de Karrer et de ses collaborateurs, de montrer qu'il existe une série

de dérivés naturels très importants d'une forme tautomère de l'alloxazine : l'isalloxazine ou flavine.

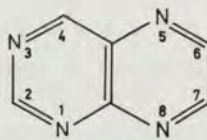
Instable à l'état libre, ce noyau existe dans les dérivés dans lesquels le H porté par le N en position 9 est remplacé par un radical quelconque. L'ensemble de ces dérivés constitue le groupe des flavines. Un exemple est la lumiflavine (photodérivé de la lactoflavine).



6,7-diméthyl-9-méthyl-isalloxazine ou lumiflavine

XII. DÉRIVÉS DE LA PTÉRIDINE

Ce noyau hétérocyclique hexagonal résulte de la condensation des noyaux pyrimidine et pyrazine.



Ptéridine

Cette structure diffère donc de celles des purines par le remplacement du noyau imidazole par un noyau pyrazine.

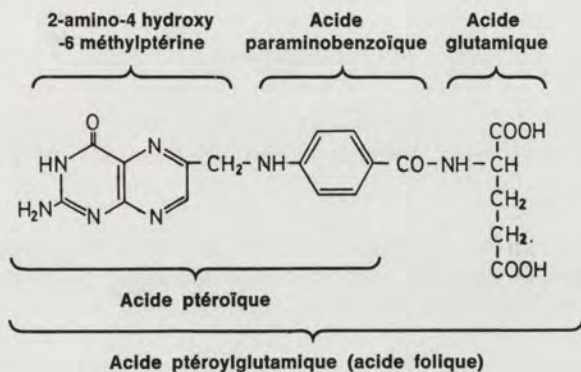
Les ptéridines sont peu solubles dans l'eau et sont insolubles dans les solvants organiques volatils. Elles présentent une vive fluorescence.

Le noyau ptéridine est partout présent dans la biosphère sous la forme de plusieurs dérivés. Certaines ptéridines sont supposées jouer un rôle important dans la vision des insectes et dans les phénomènes de bioluminescence, leur structure est inconnue. D'autres sont mieux connues par leurs produits de dégradation ; leucoptérine, xanthoptérine, érythroptérine, etc. On trouve ces ptéridines notamment dans les ailes des papillons. La fluorescence des tissus est souvent le résultat de leur présence.

Nous nous intéresserons plus particulièrement à deux groupes de ptéridines dont la structure est bien connue et dont les propriétés biochimiques sont importantes. Ces deux groupes sont représentés par l'acide folique et la riboflavine.

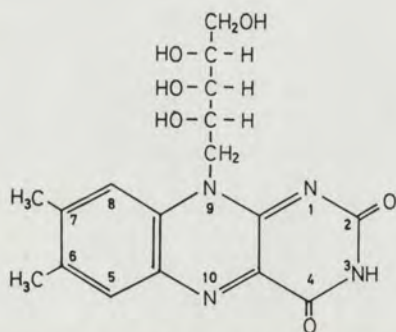
A. Acide folique

L'acide ptéroylglutamique est aussi appelé acide folique par suite de son abondance dans les feuilles des plantes. Il apparaît comme le coenzyme universel des transferts de fragments C_1 et de ce fait indispensable à la synthèse des purines et à celle des acides nucléiques. C'est un facteur de croissance important pour les organismes.



B. Riboflavine

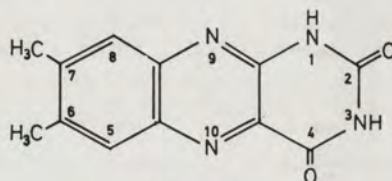
La riboflavine ou lactoflavine est un coenzyme essentiel dans les phénomènes d'oxydo-réduction. C'est un dérivé d'isoalloxazine (flavine) donc une benzoptéridine substituée.



6,7-diméthyl-9-D-ribityl-isoalloxazine ou vitamine B₂

C'est la 6,7-diméthyl-9-D-riboflavine. On la trouve à l'état combiné dans un grand nombre de tissus animaux ou végétaux. Comme le sont en général les flavines, la riboflavine est soluble dans l'eau. C'est un colorant jaune, dont les solutions ont une fluorescence jaune verdâtre. Elle donne avec les métaux lourds des sels peu solubles. Chauffée, elle se décompose à 274°. Elle est stable vis-à-vis des agents oxydants. Sous l'influence de la lumière, on peut la transformer suivant les conditions, soit en lumilactoflavine ou lumiflavine (dérivé d'isoalloxazine, p. 65), soit en lumichrome (dérivé d'alloxazine). La riboflavine, qu'on appelle encore vitamine B₂ n'est

pas en réalité un vrai nucléoside, car l'isoalloxazine est combinée chez elle, non au ribose, mais à l'alcool correspondant, qui est le ribitol.



Lumichrome

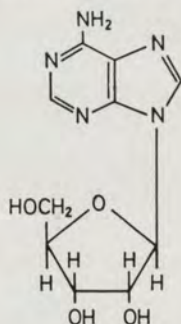
A l'encontre de ce qu'on observe dans le cas des purines, les ptéridines sont plus des accepteurs d'électrons que des donneurs. Le pouvoir accepteur est toutefois modéré et décroît avec la substitution de radicaux hydroxy- ou amino-.

L'addition d'un noyau benzène à une ptéridine substituée diminue de façon sensible l'énergie de *p_{bol}* et en conséquence la riboflavine est un bon accepteur d'électrons.

XIII. NUCLÉOSIDES

On appelle nucléosides, par extension de la dénomination de certains dérivés d'acides nucléiques, le résultat de la combinaison d'une base (le plus souvent purique ou pyrimidique) avec un ose (D-ribose ou désoxy-ribose), par l'intermédiaire d'une liaison osidique.

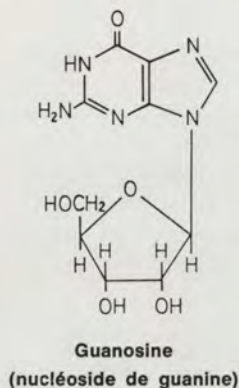
Dans ces composés, la liaison est de nature β -glucosidique ;



Adénosine
(nucléoside d'adénine)

Le nucléoside de l'adénine et du ribose est l'adénosine, celui de la guanine est la guanosine, celui de la cytosine est la cytidine, celui de l'uracile, l'uridine et celui de l'hypoxanthine, l'inosine. La thymine n'apparaissant pas dans les acides ribonucléiques, on ne trouve donc pas de riboside de cette base.

Les nucléosides formés avec le désoxyribose sont appelés des désoxyribonucléosides : on parlera donc de désoxyadénosine, de désoxyguanosine



et de désoxycytidine. Toutefois le désoxyribonucléoside de la thymine est appelé thymidine.

XIV. NUCLÉOTIDES

Ce sont les esters phosphoriques des nucléosides. Il s'agit d'acides forts qui sont appelés acide adénylique, acide guanylique, acide thymidylique, acide cytidylique et acide uridylique. Le phosphate est toujours estérifié sur la portion osidique de la molécule. Dans le cas des nucléotides contenant du désoxyribose, la phosphorylation de l'ose se fait en C—3' ou en C-5' puisque les carbones 1' et 4' sont impliqués dans l'anneau furanose et que le carbone 2' ne porte pas de —OH. Par contre dans le cas du ribose, seules les positions 1' et 4' ne sont pas accessibles à l'estérification. Les esters monophosphorés des nucléosides sont des produits de l'hydrolyse alcaline des acides nucléiques. On les trouve aussi à l'état libre dans de nombreuses cellules, notamment sous forme de dérivés polyphosphorylés. Ces derniers jouent un rôle important dans le métabolisme cellulaire (cfr chapitre 8) mais n'entrent jamais dans la constitution des acides nucléiques. D'autres enfin sont des coenzymes dont le rôle sera discuté dans le chapitre 7.

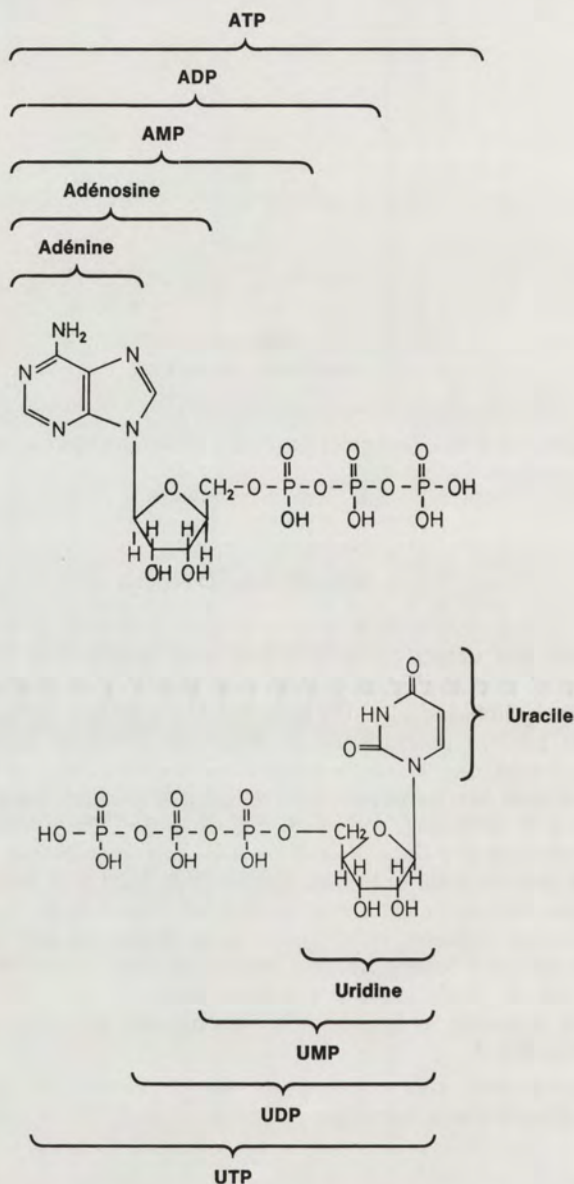
Les propriétés des nucléotides seront mises en rapport avec leur structure électronique dans les chapitres 7 et 8.

A. MONONUCLÉOTIDES

1. Monophosphate et polyphosphates d'adénosine

Ils interviennent comme coenzymes dans le transport des groupements phosphate, dans la généralité des cellules.

L'adénosine-triphosphate (ATP) a été isolé en 1928 par Lohmann à partir du tissu musculaire. Les trois phosphates terminaux de l'ATP sont liés par deux liaisons anhydrides. La libération du dernier phosphate



fournit de l'adénosine-diphosphate (ADP), et celle du suivant, de l'adénosine-monophosphate (AMP), ou adénylate.

Les phosphates d'adénosine (AMP, ADP, ATP) sont relativement instables en solution. A 100° dans les acides dilués, les deux liaisons anhydride de

l'ATP sont hydrolysées, mais la liaison ester résiste. L'estérification de l'adénosine en AMP se situe sur le carbone 5' de l'ose, tandis que dans d'autres nucléotides (coenzyme A, nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate), elle se situe au niveau d'autres atomes de carbone.

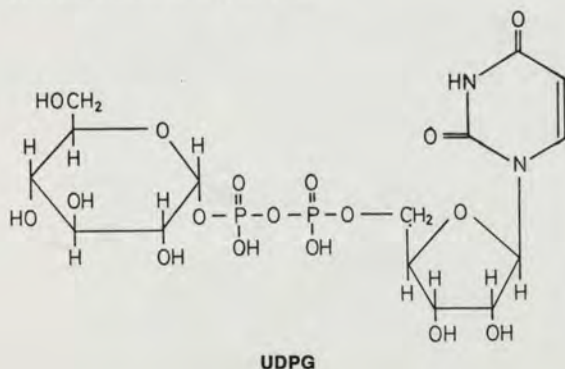
Dans la molécule des polyphosphates d'adénosine, une des molécules d'acide phosphorique est en liaison ester avec le nucléoside, mais la liaison des acides phosphoriques entre eux est une liaison anhydride, beaucoup moins stable que la liaison ester. D'autre part, l'hydrolyse de ces liaisons anhydride joue, comme nous le verrons, un rôle important dans l'énergétique biochimique, du fait de son caractère fortement exergonique.

2. Uridine-phosphates

Ces mononucléotides ont été mis en évidence aussi bien dans la levure que dans le foie des animaux. Ils sont les coenzymes de nombreuses réactions. Comme dans le cas des adénosine-phosphates, il existe une uridine-5'-triphosphate (UTP), une uridine-5'-diphosphate (UDP) et une uridine-5'-monophosphate (UMP).

3. Uridine-diphosphate-glucose (UDPG)

Ce nucléotide est le coenzyme intervenant dans la transformation du galactose-1-P en glucose-1-P (UDP glucose épimérase, E. N. 5. 1. 3. 2) ⁽¹⁾ Découvert par Leloir, il a été isolé aussi bien de la levure que des tissus animaux, et il apparaît donc comme d'importance générale. Il existe toute une série de structures biochimiques voisines de l'UDPG, dans lesquelles le glucose est remplacé par d'autres corps, par exemple l'acétylglucosamine, le xylose, l'arabinose, le rhamnose, l'acide glucuronique, l'acide muramique, l'acide galacturonique, etc.

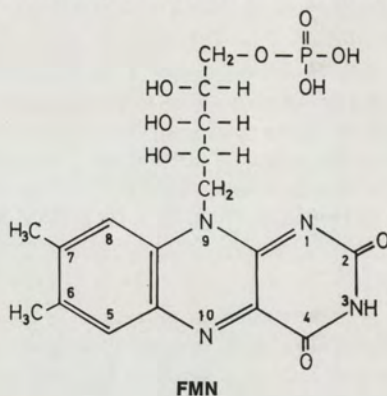


4. Flavine-mononucléotide (flavine-monophosphate)

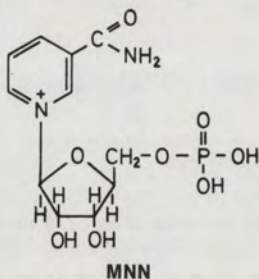
C'est improprement qu'on l'appelle d'habitude flavine-mononucléotide (FMN), car il résulte de la phosphorylation de la riboflavine qui n'est pas un

⁽¹⁾ E. N. signifie Enzyme Nomenclature ; voir la liste des ouvrages à consulter et le chapitre 7.

nucléoside vrai. Le phosphate est fixé en 5' sur le résidu ribityle. Le flavine-mononucléotide est le coenzyme de la L-aminoxidase (E. N. 1, 4, 3, 2).

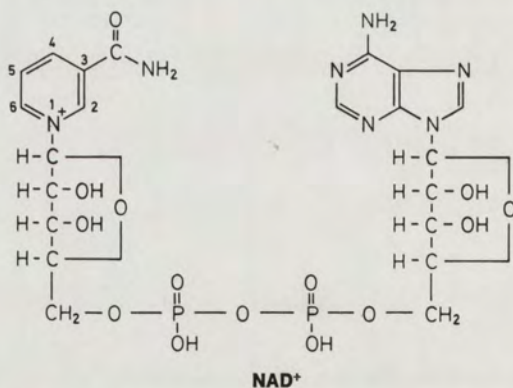


5. Mononucléotide de nicotinamide (MNN)



On l'a isolé de la levure.

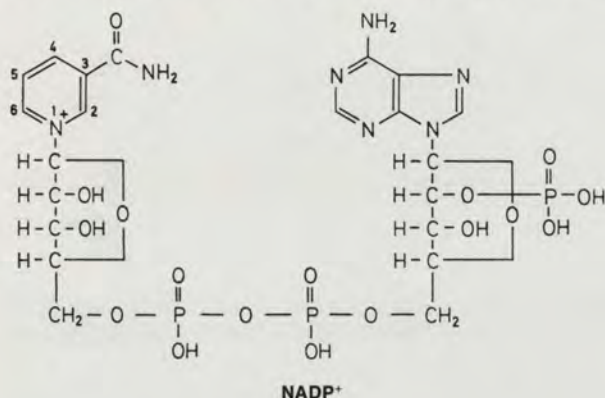
B. DINUCLÉOTIDES



1. Nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD) et nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP)

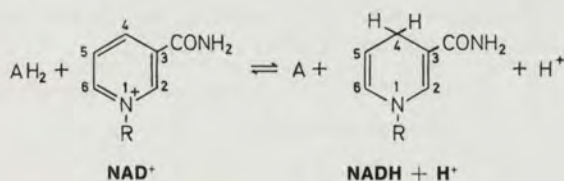
Le nicotinamide-adénine-dinucléotide (autrefois DPN, coenzyme 1, codéshydrogénase 1, cozymase), important coenzyme d'utilisation générale,

contient la nicotinamide et l'adénine comme bases hétérocycliques, et deux molécules de D-ribose. Les deux nucléotides sont liés par un pont pyrophosphate. Une substance voisine, elle aussi répandue universellement dans la biosphère, ne diffère de la précédente que par un phosphate de plus, estérifiant le carbone 2' du ribose attaché à l'adénine. C'est le nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (autrefois TPN, coenzyme II, Co II



ou codéshydrogénase II). Ces nucléotides et leurs sels de baryum sont très solubles dans l'eau. Les formes oxydées sont désignées par les symboles NAD^+ ou NADP^+ . NAD^+ possède deux phosphoryles dissociables à fonctions acides primaires, et n'a pas de secondaire, tandis que dans NADP^+ , à deux fonctions primaires s'ajoute une secondaire.

La réduction réversible du noyau de pyridine transforme NAD^+ en dinucléotide réduit, $\text{NADH} + \text{H}^+$ (NADH_2 , NADred), et c'est de la même manière que le NADP^+ est réversiblement réduit.

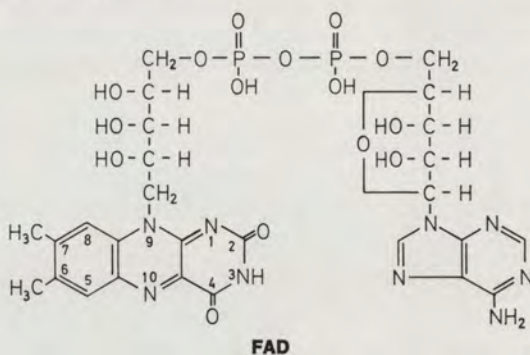


Un transfert stoechiométrique d'hydrogène s'opère du substrat au coenzyme avec libération d'un équivalent acide. En effet, un azote quaternaire très basique est transformé en un atome ternaire faiblement basique. La réduction s'opère comme on le voit, en position *para* dans le noyau pyridine.

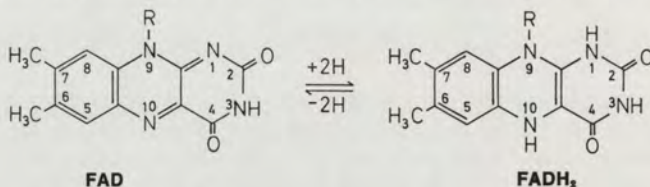
2. Flavine-adénine-dinucléotide (FAD)

Comme le FMN, le FAD est un pseudonucléotide contenant de l'acide adénylique en liaison pyrophosphorique avec le FMN. C'est le coenzyme de la xanthine-oxydase (E. N. 1, 2, 3, 2), de l'aldéhyde-oxydase (E. N. 1, 2, 3, 1) et d'autres transdeshydrogénases aérobies. Comme la riboflavine et le FMN, le

FAD est universellement répandu dans la biosphère. Sa couleur est d'un jaune rougeâtre, tandis que les solutions de FMN, comme celles de riboflavine, sont d'un jaune verdâtre.

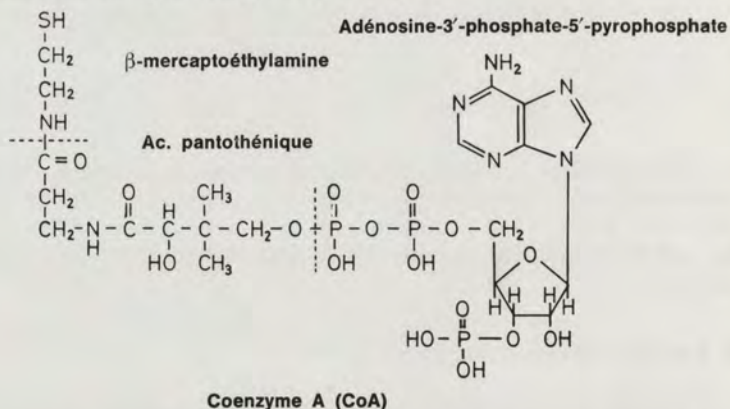


La formule ci-dessus est celle du dinucléotide oxydé. Sa réduction s'opère au niveau du noyau isoalloxazine selon le mode suivant



XV. COENZYME A (CoA)

Ce corps essentiel et universellement répandu résulte de l'association de l'adénosine-3'-phosphate-5'-pyrophosphate, de l'acide pantothénique et de la thioéthanoline (β-mercaptoéthylamine).

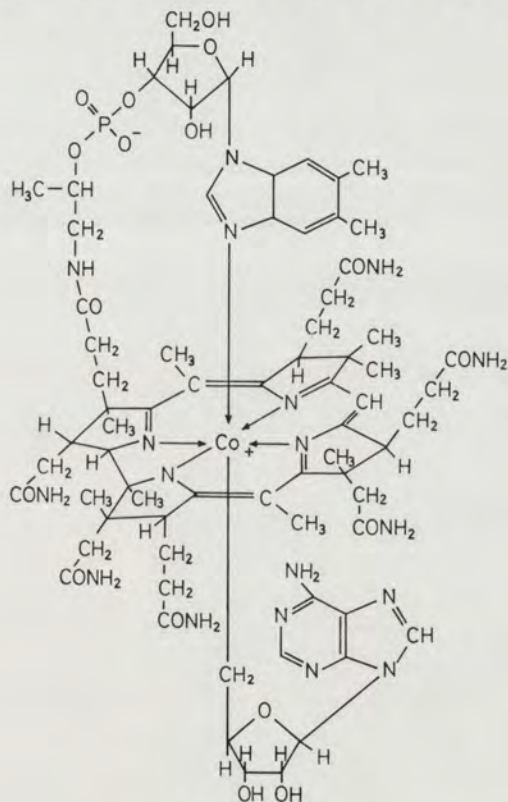


Si on substitue à l'atome d'hydrogène du —SH de l'extrémité thioéthanoline du coenzyme A un résidu acétyle on obtient l'« acétate actif »,

ou acétyl-CoA, dont le rôle métabolique est primordial. C'est le thioester de l'acide acétique et du CoA, qui joue un rôle universel de donneur d'acétyle et qui contient une liaison acylmercaptan dans laquelle un groupement carboxyle et un groupement sulfhydryle sont condensés en anhydride d'acide avec perte d'eau. C'est une liaison dite « riche » parce que son hydrolyse libère environ 6 000 calories par mole (Chap. 8, p. 205). Malgré cette hydrolyse fortement exergonique, la liaison acylmercaptan de CoA-S-CO-CH_3 est très stable en solution aqueuse aux pH physiologiques. C'est seulement en présence des catalyseurs que sont les enzymes spécifiques que cette liaison est hydrolysée.

XVI. CYANOCOBALAMINE (VITAMINE B₁₂)

La cyanocobalamine est très répandue chez les êtres vivants : on l'a trouvée chez des bactéries, des algues et des tissus animaux. Elle ne paraît pas être un constituant des feuilles vertes des végétaux. C'est chez l'homme,



Cyanocobalamine

une vitamine importante, et l'un des « facteurs extrinsèques » de l'hématopoïèse. Elle a été cristallisée en 1948. Ses cristaux, d'un rouge foncé,

fondent à 320° et ses solutions présentent des bandes d'absorption bien marquées à 278, à 361 et à 550 mμ. Elle contient du cobalt et du phosphore et son poids moléculaire est voisin de 1500. L'hydrolyse acide de la cyanocobalamine fournit du 5, 6-diméthylbenzimidazol, du ribofurannose, de l'acide phosphorique, du 1-amino-2-propanol et un complexe de cobalt dans lequel ce métal est entouré par un acide hexacarboxylique constitué par l'association de quatre noyaux de pyrrolidine modifiés par une suite de doubles liaisons conjuguées. La molécule contient six fonctions amides primaires et une secondaire, joignant le résidu aminopropanol au groupement propionique du cycle pyrrolidine supérieur gauche.

Le cobalt occupe la même situation que celle du fer dans les molécules hémiques ; il est bivalent et toutes ses liaisons, sauf deux, sont du type de coordination⁽¹⁾. L'une de celles-ci l'unit à un des atomes d'azote de la molécule de 5, 6-diméthylbenzimidazole. Ce dernier est associé par une liaison glucosidique au ribose-3-phosphate, lui-même estérifié par l'aminoisopropanol.

Le rôle biologique de cette molécule est intimement dépendant de son association avec un métal et peut être mis en relation avec les orbitales moléculaires qui s'établissent entre les orbitales électroniques de la molécule et celle du métal. Les caractéristiques générales des complexes de ce genre ont été présentées à propos des dérivés du pyrrole.

A CONSULTER

PULLMAN, B. et PULLMAN, A., Quantum biochemistry. Interscience Publishers, New York, 1963.

Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 9. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1963.

⁽¹⁾ Les métaux de transition peuvent former des complexes dits de coordination dans lesquels les ligands sont arrangés autour de l'atome central aux quatre coins soit d'un tétraèdre, soit d'un carré.

CHAPITRE 6

Les macromolécules et leurs constituants

I. Méthodes d'isolement et de purification des macromolécules	80
II. Polysaccharides	82
A. Les oses	83
1. Aldoses et cétooses	83
2. Formules cycliques	86
3. Propriétés des oses	90
4. Les oses naturels	92
5. Oses aminés	92
6. Désoses	92
7. Polyalcools apparentés aux oses	93
8. Produits d'oxydation des aldoses	93
B. Oligosaccharides : diholosides et triholosides	94
1. Diholosides non réducteurs	94
a) saccharose	94
b) tréhalose	95
2. Diholosides réducteurs	96
a) maltose	96
b) cellobiose	96
c) lactose	96
3. Triholosides naturels	97
C. Polysaccharides	97
1. Polyglucoses	97
a) cellulose	97
b) amidon	100
c) glycogène	102
d) autres polyglucoses	103

2. Polymères d'autres aldoses et cétooses	103
a) galactanes	103
b) mannanes	103
c) fructosanes et lévanes	103
d) xylanes	104
3. Polyuronides	104
4. Polyglucosamines	105
5. Polymères mixtes	105
a) gommes et mucilages	105
b) mucopolysaccharides	105
6. Polysaccharides des bactéries	106
a) pneumocoques	106
b) autres microorganismes	106
7. Polysaccharides des groupes sanguins	107
III. Protéines	107
A. Acides aminés	107
1. Définition	107
2. Acides aminés universellement présents dans la biosphère	111
3. Acides aminés occasionnels	111
4. Stéréoisomérisation	112
5. Propriétés chimiques des acides aminés	112
a) propriétés résultant de la présence du carboxyle	113
b) propriétés résultant de la présence du groupement aminé	113
c) propriétés résultant de la présence des deux groupements	114
d) autres propriétés	114
6. Ionisation des acides aminés	114
a) ionisation des acides et des bases faibles	114
b) courbe de titration d'un acide aminé	121
B. Liaison peptidique et peptides	125
1. Peptides de synthèse	126
2. Peptides naturels	127
a) glutathion, anserine, carnosine	127
b) antibiotiques	128
c) phalloïdine	129
d) hormones peptidiques	129

C. Protéines	130
1. Classification	130
a) protéines fibreuses	130
b) protéines globulaires	131
c) protéines conjuguées	138
2. Caractères généraux des solutions de protéines	138
a) réactions de coloration	138
b) réactions de précipitation	140
3. Nature et situation des acides aminés constituant les protéines	140
a) teneur en azote et en soufre	140
b) titration	140
c) composition de l'hydrolysate	143
d) détermination des séquences d'acides aminés	143
4. Structures secondaire, tertiaire et quaternaire	147
D. Nucléoprotéines	148
1. Propriétés des deux catégories d'acides nucléiques	148
a) acides ribonucléiques (RNA)	148
b) acides désoxyribonucléiques (DNA)	149

Les préoccupations de la biologie moléculaire dérivent d'un courant d'idées qui a son origine dans l'individualisation de la notion de haut-polymère ou de macromolécule. La notion selon laquelle les protéines, la cellulose, l'amidon, etc. sont des polymères, c'est-à-dire des associations d'unités plus petites par l'intermédiaire de valences est ancienne. Elle remonte au moins à 1871, date de la publication d'un travail de Hlaziwetz et Habermann, dans lequel le concept est clairement défini. Malheureusement, Graham devait ranger les mêmes composés chimiques parmi ses « colloïdes », conception qui amena entre les macromolécules et les particules colloïdales vraies, dans lesquelles les molécules sont associées par l'intermédiaire de valences résiduelles, une confusion longtemps stérilisante. C'est à Staudinger que revient le mérite d'avoir ramené la biochimie dans le droit chemin, en montrant que les propriétés « colloïdales » des solutions de macromolécules existent quel que soit le solvant contrairement à ce qu'on observe dans le cas des micelles résultant de l'association de petites molécules par des valences secondaires.

En insistant sur le niveau d'organisation nouveau qui correspond à la formation de macromolécules, et à l'apparition de la spécificité accompagnant cette formation, les pionniers de la chimie macromoléculaire faisaient, comme Monsieur Jourdain de la prose, de la biologie moléculaire sans le savoir.

On qualifie de macromoléculaires les composés chimiques dont le poids moléculaire dépasse 10 000 et au sein desquels l'armature des covalences s'étend dans l'ensemble de la structure tridimensionnelle, ce qui n'exclut pas la mise en jeu d'autres formes de liaison à différents points de cette structure. Cette frontière plus ou moins arbitraire, définie par un poids moléculaire, correspond approximativement aux grandeurs moléculaires à partir desquelles la présence de grosses particules confère aux solutions les propriétés dites « colloïdales ». Les hauts-polymères ou macromolécules sont constitués par des résidus de monomères associés en chaîne dans un ordre déterminé, par le jeu de la covalence. Ces chaînes peuvent être associées par des liaisons latérales, covalentes elles aussi, de sorte que la structure résultante est un réseau à trois dimensions.

I. MÉTHODES D'ISOLEMENT ET DE PURIFICATION DES MACROMOLÉCULES

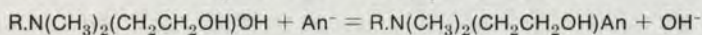
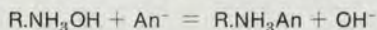
L'une des difficultés que rencontre l'analyste dans l'isolement des macromolécules qui entrent dans la constitution des structures cellulaires est le fait qu'elles sont souvent sensibles à une élévation de température. C'est pour cette raison que la chambre froide est l'une des installations essentielles des laboratoires de biochimie. La nécessité du travail à basse température peut cependant être allégée par l'emploi de centrifugeuses réfrigérées, de manchons refroidissants entourant les colonnes de chromatographie, etc. Le recours, pour la concentration de macromolécules labiles, aux méthodes de lyophilisation a favorisé le progrès de leur étude. Quand l'analyste part d'un matériel solide, il doit d'abord le broyer, et le mettre en solution, ce qui n'altère pas les macromolécules si les opérations sont conduites à basse température et parfois, pour éviter les oxydations, dans un milieu de gaz inerte, comme l'hélium ou l'azote.

Quand le matériel est homogénéisé, on peut, pour séparer ses constituants, utiliser la centrifugation. Pour provoquer la sédimentation des macromolécules de dimensions moyennes, on doit recourir à des vitesses de 30 000 à 40 000 tours par minute et une séparation de différents constituants ne peut être accomplie que si les caractéristiques des diverses particules sont nettement différentes.

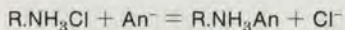
Si une solution contenant des macromolécules est introduite dans un tube de cellophane qu'on immerge ensuite, par exemple, dans un baquet d'eau, les particules les plus petites traversent la membrane et sont éliminées dans l'eau. Le processus de purification sera accéléré par l'agitation du boyau dialyseur et par le renouvellement de l'eau dans laquelle il baigne. Le processus qui vient d'être décrit, et qu'on nomme dialyse, est souvent utilisé pour débarrasser une solution de macromolécules des ions inorganiques ou des petites molécules organiques qu'elle contient. Si on fait passer un courant continu à travers la solution située dans le dialyseur, le processus est accéléré (électrodialyse). On peut séparer par extraction, soit la substance à purifier, soit les impuretés dont elle est accompagnée dans sa solution.

Après centrifugation et filtration, suivies de dialyse, il reste le plus souvent un mélange de macromolécules qui peut être résolu au moyen de précipitations fractionnées. Une série de redissolutions et de reprécipitations accroît le degré de pureté de la macromolécule précipitée. Parmi les méthodes modernes d'isolement et de purification des macromolécules figurent les méthodes chromatographiques préparatoires. La chromatographie de partage tire profit de la solubilité différente des composés dans deux solvants non miscibles.

La méthode dans laquelle cette répartition entre les solvants est effectuée de manière répétée porte le nom de distribution à contre-courant. La chromatographie d'adsorption tire parti du fait que certains adsorbants (solides pulvérisés) ont des affinités différentes pour diverses substances. Quand plusieurs substances en solution traversent, par exemple, une colonne de l'adsorbant, les substances ayant pour ce dernier l'affinité la plus grande se fixent sur les particules et occupent donc la partie supérieure de la colonne. La substance venant ensuite dans l'ordre décroissant des affinités occupera la zone suivante, etc. Si on fait passer à travers la colonne un solvant qu'on introduit à la portion supérieure du tube, les substances solubles dans ce solvant et qui ont l'affinité la plus faible pour l'adsorbant seront éluées en premier lieu et on pourra les recueillir en fractions successives. A l'heure actuelle, on peut dire que la méthode la plus utile pour l'isolement et la purification des macromolécules est la séparation par la mise en jeu des surfaces de différents solides ionisés. Dans cette méthode, on utilise des échangeurs d'ions qui sont de longues chaînes macromoléculaires, principalement des résines de polystyrènes synthétiques (Dowex, Amberlite, etc.). Ces chaînes, présentant des liaisons transversales forment un réseau portant des groupes dissociables tels que $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{COOH}$ ou NH_2 . Ces résines sont de caractère plus ou moins acide (échangeurs de cations) ou basique (échangeurs d'anions). L'un des échangeurs d'ions les plus utilisés dans la chromatographie mettant en jeu les caractères de ces polymères est le Dowex 50 (polystyrène sulfoné à liaisons transversales de divinylbenzène). La plupart des macromolécules organiques sont des anions multivalents de grande taille et par conséquent ce sont les réactions d'échange d'anions qui sont utilisées le plus souvent.



On peut neutraliser d'abord la résine alcaline avant de l'utiliser pour l'échange.



La combinaison et l'éluion dépendront de l'acidité des solutions utilisées, soit pour la traversée de la colonne, soit pour l'éluion. L'électrophorèse est un autre procédé de séparation des macromolécules. Quand une macromolécule est électriquement chargée, comme c'est le cas pour les protéines, les acides nucléiques, certains polysaccharides, etc., elle migre dans un champ électrique. La mobilité électrique d'une particule chargée s'exprime par la relation $n = V/E$, dans laquelle V est la vitesse en cm/sec et E le champ électrique en volts par centimètre.

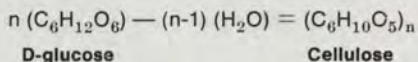
En milieu liquide, la détermination de la mobilité électrique se fait par la méthode des déplacements de frontière. L'électrophorèse en zones s'accomplit sur un support inerte tel que le papier, l'amidon, la cellulose, etc. Pour l'électrophorèse préparative, on dispose d'appareils dans lesquels les solutions sont soumises au courant électrique au niveau d'un support de papier, la feuille de papier étant fixée verticalement. La solution contenant les constituants devant être séparés est versée sur la portion supérieure de la feuille de papier, laquelle est reliée par ses bords latéraux à des électrodes. Les particules chargées électriquement migrent latéralement dans le champ électrique, tandis que les macromolécules électriquement neutres se déplacent avec le solvant⁽¹⁾. Un dispositif adéquat permet de recueillir les fractions apparaissant au bord inférieur de la feuille de papier. D'autres méthodes tirent parti de l'usage de colonnes d'amidon, de cellulose, etc. Le point essentiel est d'éviter l'élévation de la température.

II. POLYSACCHARIDES

Les polysaccharides, très répandus dans la biosphère, y remplissent les fonctions de matériel de soutien (cellulose, xylane, chitine, etc.) et celles d'accumulateurs de réserve de leurs monomères (amidon, glycogène, inuline, galactogène, etc.).

La macromolécule d'un polysaccharide résulte de l'association par des liaisons osidiques, d'un grand nombre (n) de molécules d'oses.

Exemple :



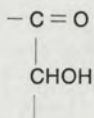
Les oses peuvent être associés sous la forme d'osides, de poids moléculaires moindres que 10 000, et ils sont nommés holosides si les produits de leur hydrolyse sont uniquement des oses. On distingue les diholosides (saccharose, lactose, maltose, cellobiose), triholosides ou tétraholosides selon le nombre de molécules d'oses que fournit l'hydrolyse d'une de leurs molécules. Les hétérosides, dont l'hydrolyse libère non seulement des oses, mais aussi des substances autres que les oses, sont très abondants dans le règne végétal.

Parmi les macromolécules des polysaccharides, on distingue les polymères dont l'hydrolyse libère uniquement des oses de ceux libérant lors de l'hydrolyse des substances autres que les oses.

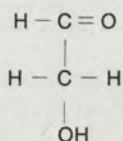
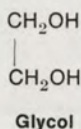
⁽¹⁾ La migration observée est la composante du déplacement du solvant dans le sens vertical et du champ électrique horizontal. Toutefois le support peut être porteur de charges électriques fixes, ce qui détermine un phénomène d'électro-osmose. En conséquence le déplacement du solvant ne sera pas strictement vertical mais subira une légère déviation en rapport avec l'orientation du champ électrique.

A. LES OSES

Ils sont caractérisés par la présence du groupement « ose » :



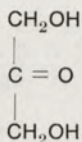
L'ose le plus simple est l'ose à deux atomes de carbone, ou biose, l'aldéhyde glycolique, terme le plus simple de la série des aldéhydes-alcools et qu'on obtient par oxydation du glycol :



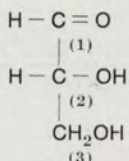
Aldéhyde glycolique

1. Aldoses et cétooses

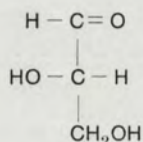
On distingue parmi les oses, des aldoses et des cétooses. Parmi les oses à trois atomes de carbone ou trioses, par exemple, on trouve un cétoose, la dihydroxyacétone, et un aldose, le glycéraldéhyde. Ce dernier contenant un atome de carbone asymétrique peut exister sous deux variétés optiques.



Dihydroxyacétone

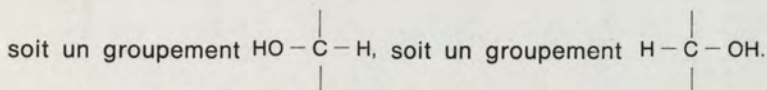


D(+)-glycéraldéhyde



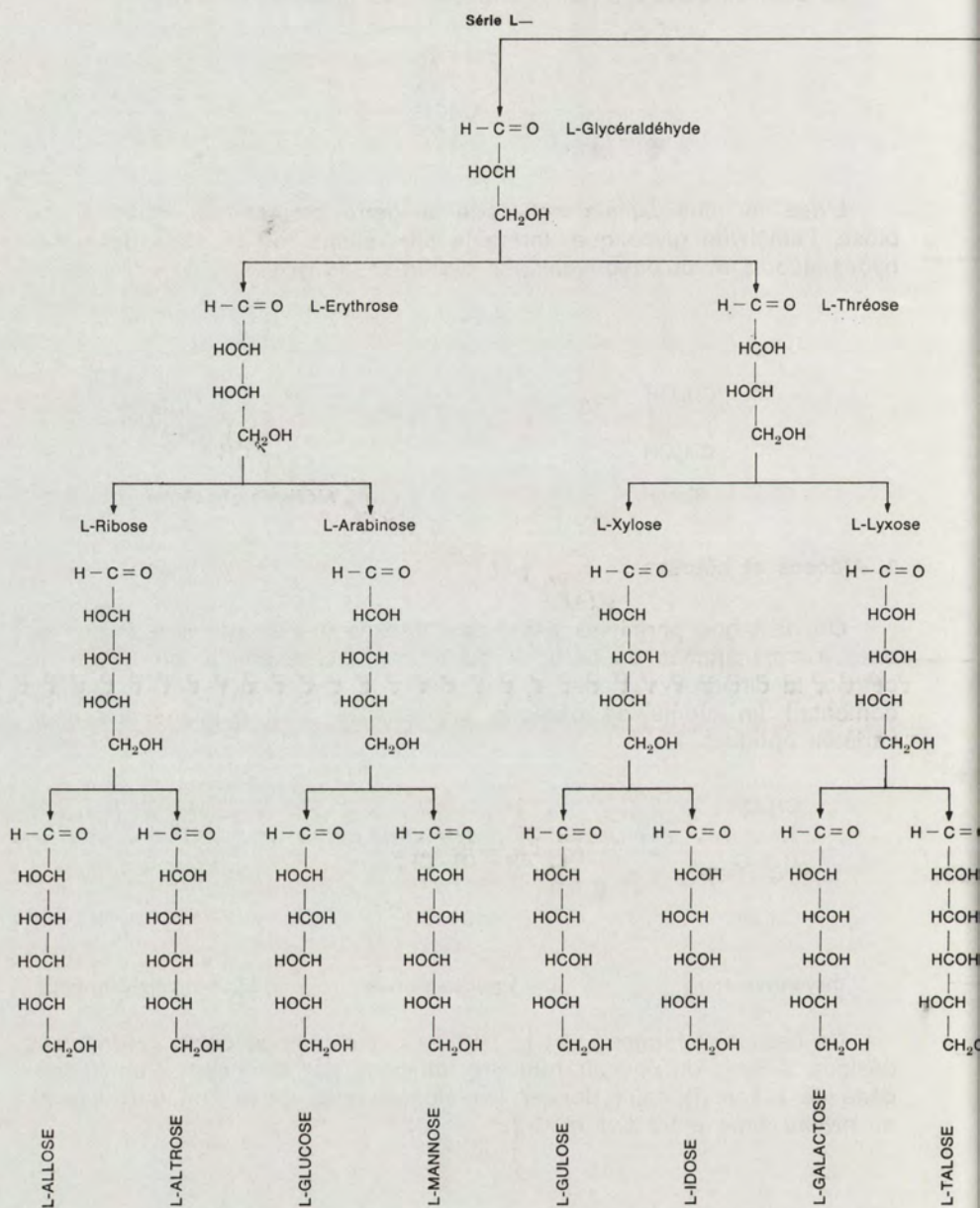
L(-)-glycéraldéhyde

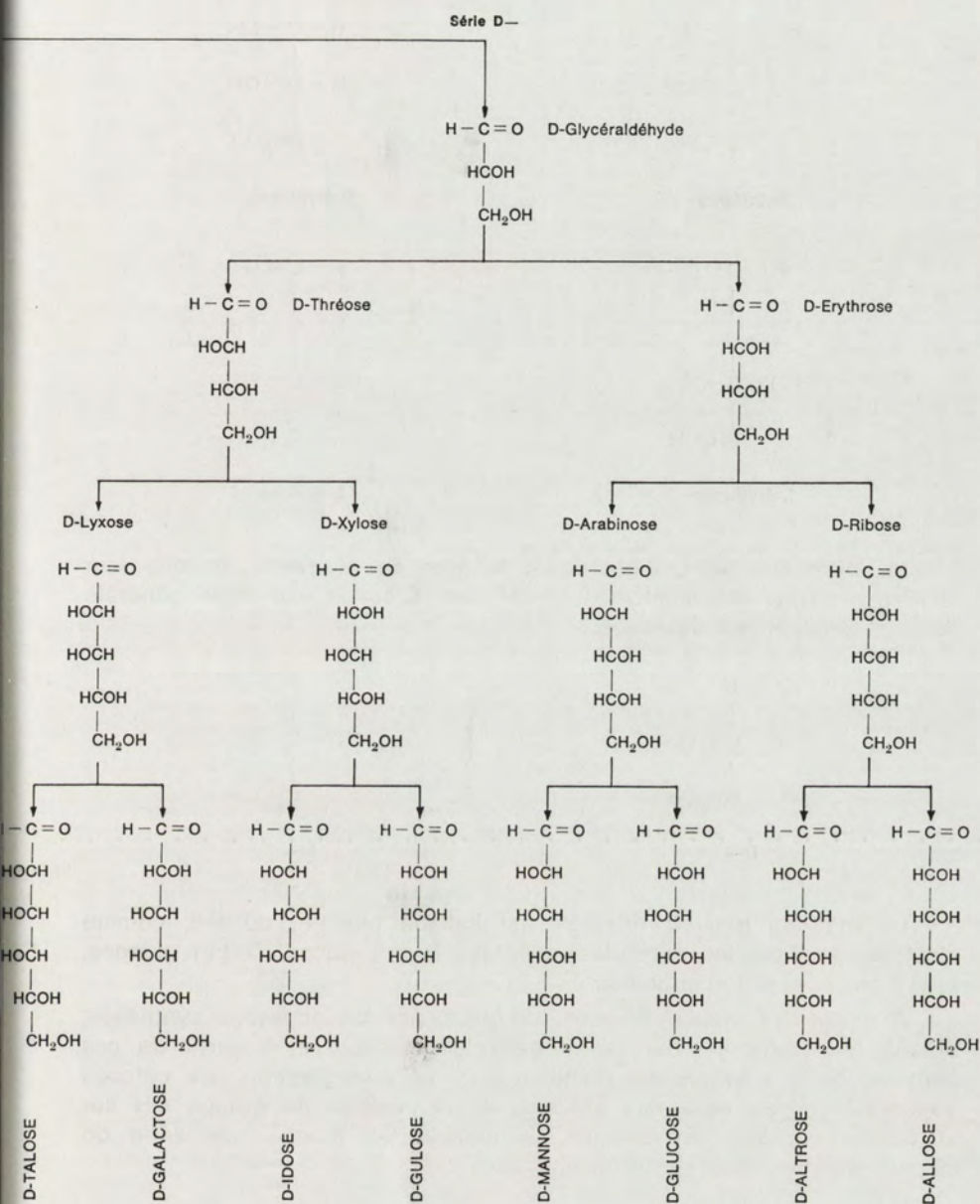
De ces deux formes D et L, dont le signe indiqué entre parenthèses désigne le sens du pouvoir rotatoire, on peut, par synthèse selon le procédé de Kiliani ⁽¹⁾, faire dériver les aldoses plus élevés en introduisant, au niveau situé entre C-1 et C-2,



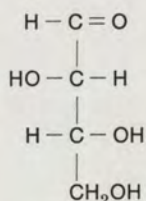
⁽¹⁾ HCN donne avec les oses un nitrile-alcool qui, par hydrolyse, fournit un acide possédant un atome de carbone de plus que l'ose initial. Par réduction de l'acide on obtient donc un ose ayant un carbone de plus.

FIG. 6-1
Structure des aldoses

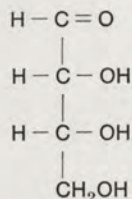




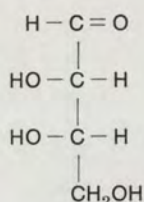
On pourra ainsi obtenir les quatre tétroses, ou oses en C_4 :



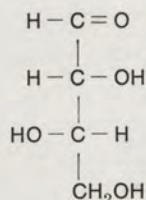
D-thréose



D-érythrose

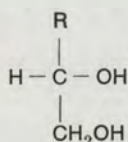


L-érythrose

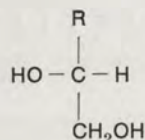


L-thréose

La lettre D— ou L— précédant le nom de ces oses, indique leur filiation avec un des aldéhydes glycériques. C'est là une règle générale dans la terminologie des oses.



D—



L—

Le sens du pouvoir rotatoire est indiqué par (+) ou (—), comme c'est le cas dans les exemples suivants : D (—) ribose, D (+) glucose, L (—) glucose, D (—) arabinose.

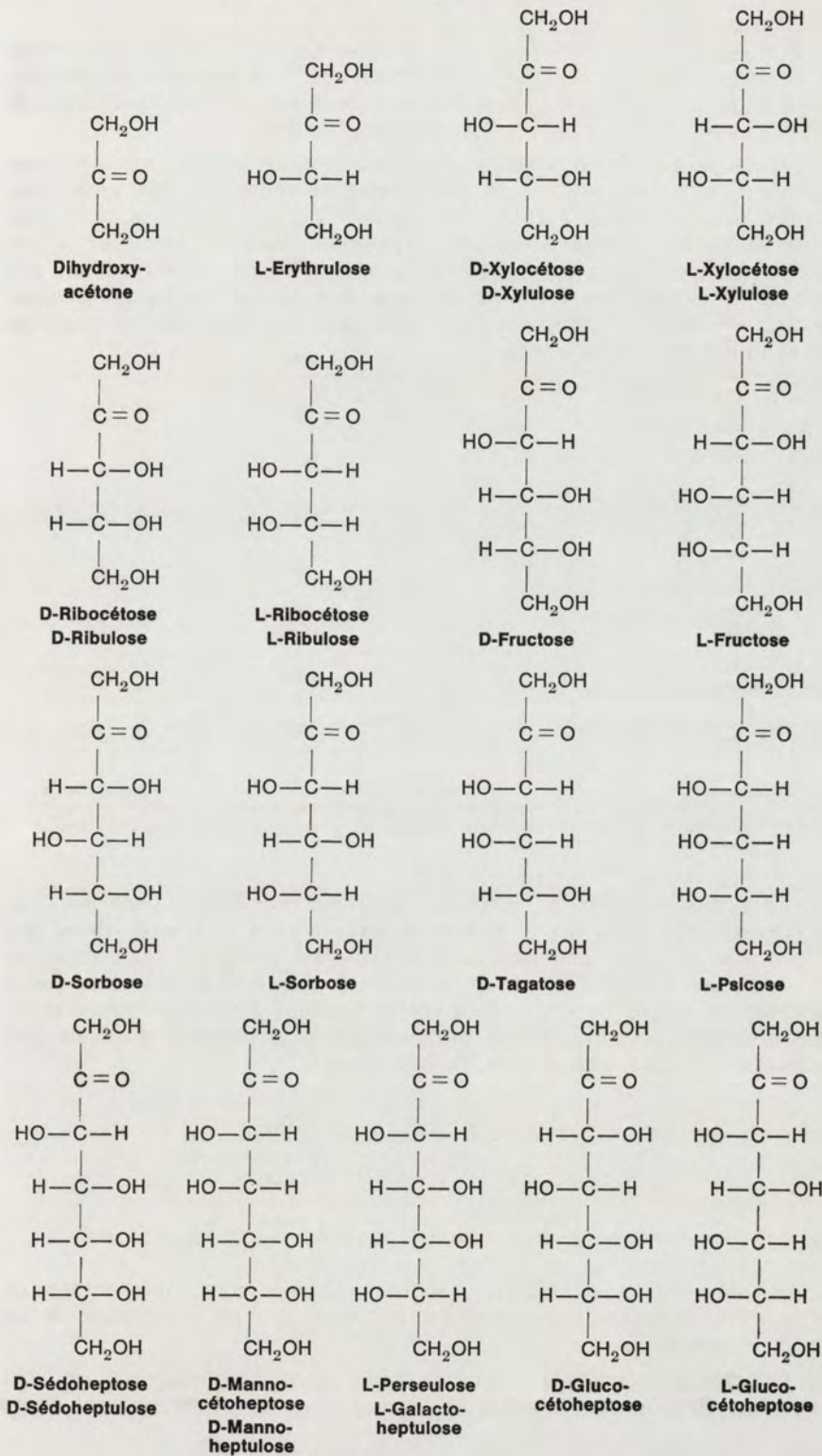
A partir des quatre tétroses, on peut, par de nouvelles synthèses, obtenir huit pentoses, qui seront des aldopentoses, et à partir de ces derniers, seize aldohexoses (Tableau 6-1). La configuration des cétooses se déduit comme celle des aldoses, de la position du groupe OH sur le dernier carbone asymétrique. Le tableau 6-2 montre une série de cétooses connus, naturels ou synthétiques.

2. Formules cycliques

Dans ce qui précède, les oses sont considérés comme des molécules en chaînes droites, mais il est établi que dans les cristaux des oses

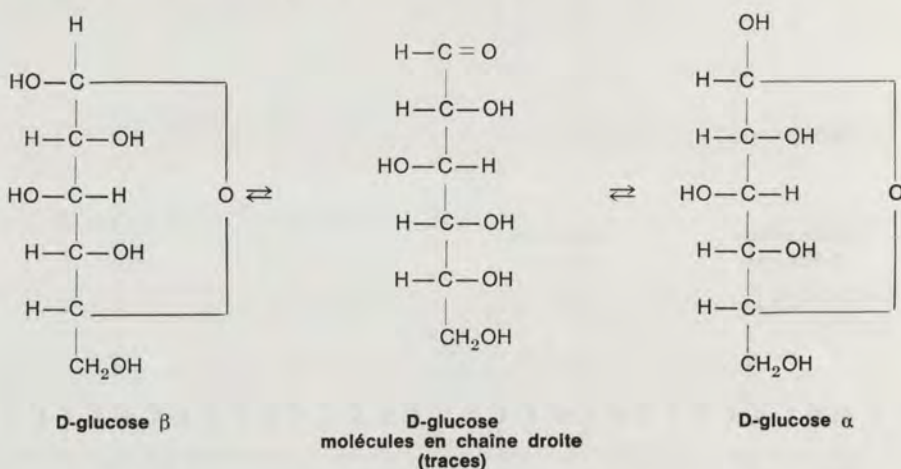
FIG. 6-2

Cétooses connus (naturels ou synthétiques)



dont le nombre d'atomes de C est plus grand que 4, il existe des formes tautomères cycliques. Dans leurs solutions, ces oses sont presque entièrement sous la forme de ces molécules cycliques, en équilibre avec de petites quantités de molécules en chaînes droites.

C'est pourquoi les aldoses, lorsqu'ils ont un nombre de carbones supérieur à 4, ne présentent pas certaines réactions des aldéhydes. D'autre part, lorsqu'on prépare une solution de glucose, le pouvoir rotatoire de cette solution varie progressivement pour se stabiliser à une valeur qui reste alors constante (mutarotation). Ceci est dû au fait que le glucose existe sous la forme de deux isomères de la forme cyclique, et qu'un équilibre s'établit entre ces deux isomères et de faibles quantités de la forme en chaîne droite :



Dans ces formules, le cycle est constitué par cinq atomes de C et un atome d'O, mais on a démontré en outre la présence, dans des solutions d'oses, de molécules dont le cycle est formé par quatre atomes de C et un atome d'O, et on a préparé des dérivés de ces corps. Comme ces cycles correspondent respectivement à ceux du furan et du pyran, Haworth a proposé une terminologie dans laquelle les oses sont considérés comme des dérivés de ces noyaux.



Pyran

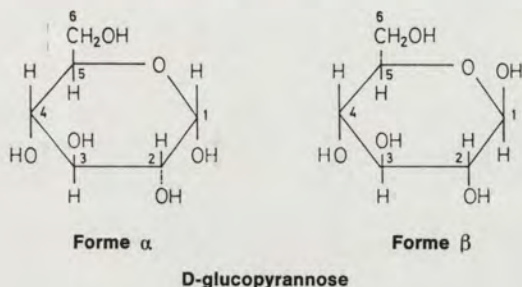


Furan

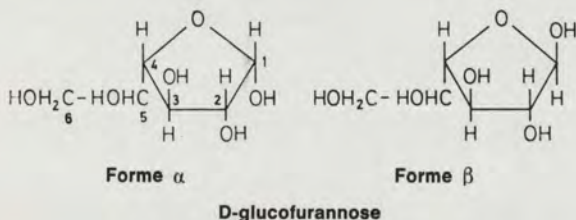
Les formules pyranosiques et furannosiques sont représentées en perspective dans un plan, chacune de leurs pointes correspond à un atome de carbone.

Les atomes dont les symboles sont écrits au-dessus se trouvent au-dessus du plan de l'hétérocycle et ceux dont les symboles sont écrits

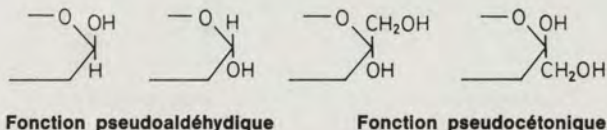
au-dessous se trouvent au-dessous du plan. Ces formules contiennent un carbone asymétrique de plus que les formules linéaires, celui qui, dans le D-glucopyrannose par exemple correspond à la position 1.



Bien qu'elles soient toutes deux dextrogyres, les pouvoirs rotatoires spécifiques des deux formes du D-glucopyrannose sont différents. La forme instable du glucose est le glucofurannose. Ce dernier existe également sous les deux formes α et β .

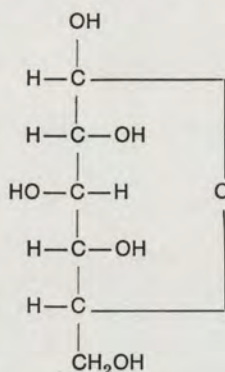
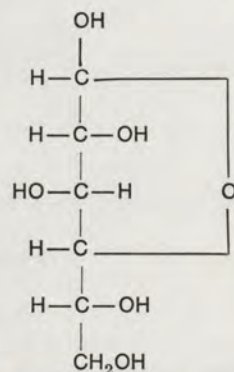


On peut préparer des cristaux de la forme α ou de la forme β du D-glucopyrannose. On obtiendra la première si on fait cristalliser une solution aqueuse, et la seconde si on fait la cristallisation dans la pyridine. Les deux formes se distinguent par une série de caractères, comme par exemple leur point de fusion et leur pouvoir rotatoire en solution fraîchement préparée. En solution, il se produit une transformation d'une forme dans l'autre d'où il résulte une variation du pouvoir rotatoire jusqu'à ce que soit atteint un équilibre (équilibre de mutarotation). Dans les formules de Haworth, on ne retrouve pas la fonction cétonique ou aldéhydrique que montre la formule linéaire. Elle est remplacée par une fonction pseudoaldéhydrique ou pseudocétonique.

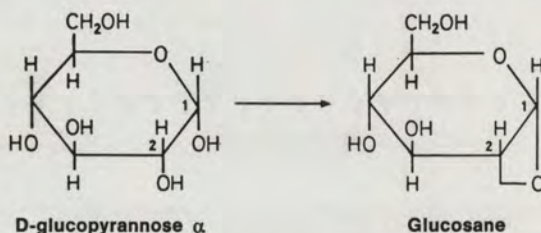


Les oses sont en effet réducteurs comme les aldéhydes et les cétones, mais ils ne recolorent pas la fuchsine décolorée par SO_2 .

Les formules de Haworth sont maintenant généralement acceptées. Elles donnent une idée beaucoup plus nette de la situation relative des différents éléments que les formules cycliques du modèle ci-dessous.

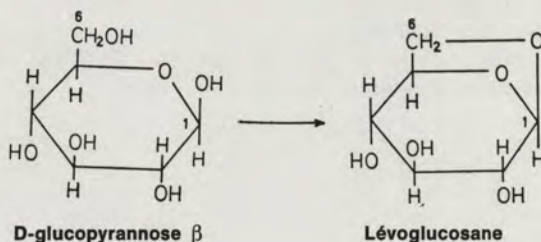
D-glucopyranose α D-glucofuranose α

Elles rendent compte de certaines propriétés que n'incluent pas ces dernières formules. On sait, par exemple, que le D-glucopyranose α , chauffé, donne un anhydride, le glucosane résultant d'une élimination d'eau entre OH de C-1 et OH de C-2 :

D-glucopyranose α

Glucosane

tandis que le D-glucopyranose β , chauffé, donne un autre anhydride, le lévoglucosane, résultant d'une élimination d'eau entre OH de C-1 et OH de C-6, ce qui s'explique par le voisinage de ces deux C dans la formule de Haworth.

D-glucopyranose β

Lévoglucosane

3. Propriétés des oses

Sous leur forme stable, ce sont des solides blancs, cristallisés, très solubles dans l'eau, insolubles dans l'éther, l'acétone et la plupart des

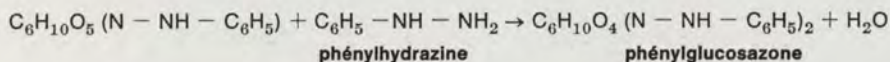
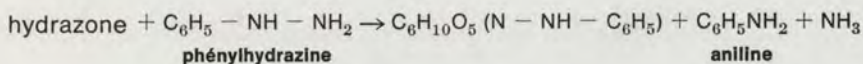
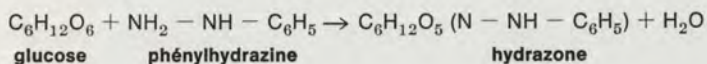
solvants organiques. Ils contiennent un groupement réducteur, celui qui correspond à C-1 dans la formule du glucose selon Haworth.

Cette propriété réductrice ne se marque en général qu'à chaud et en milieu alcalin. Le pouvoir réducteur est donc faible (certains oses, cependant, sont réducteurs à froid). On emploie surtout, pour mettre en évidence la propriété réductrice des oses, des solutions de sulfate de cuivre en milieu alcalin et on ajoute des substances maintenant en solution l'hydroxyde cuivrique ainsi préparé (on peut remplacer le cuivre par le bismuth, le mercure, etc.). En chauffant la solution d'ose en présence du réactif, on obtient un mélange de corps qui n'ont pas encore été identifiés et qui résultent de l'attaque du groupement réducteur.

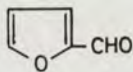
Une oxydation douce, comme celle produite par le brome en solution aqueuse oxydara le groupement constituant la chaîne latérale et il y aura formation d'un acide-alcool (l'acide glucuronique dans le cas du glucose).

Avec la phénylhydrazine, les oses donnent des composés d'addition, les hydrazones. Ces dernières sont solubles dans l'eau, mais en présence d'un excès de phénylhydrazine, à 100°, il y a formation d'osazones insolubles.

Exemples :



Traités par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique, les oses sont transformés en furfural



Mis en contact avec la levure de bière, à une température de 15 à 20°, les oses à trois, six ou douze carbones sont transformés en CO₂ et alcool : ils sont fermentescibles.

Les oses sont optiquement actifs. La lettre D— ou la lettre L— précédant le nom d'un ose n'est pas nécessairement, comme nous l'avons dit, une indication du sens de son pouvoir rotatoire, c'est une indication relative aux liens de parenté chimique qui unissent les différents oses.

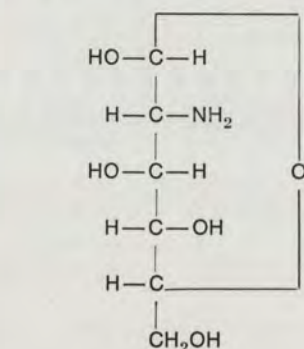
Les propriétés qui viennent d'être énumérées sont celles des oses vrais (à partir de cinq carbones).

4. Les oses naturels

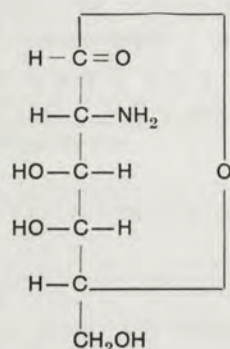
On trouve dans la biosphère une sélection définie de la collection des oses, soit sous forme libre, soit sous forme combinée. Les homologues inférieurs présents dans cet échantillonnage sont un diose, l'aldéhyde glycolique ; deux trioses, le glycéraldéhyde et la dihydroxyacétone, et un tétrorse, le D-érythrose. Les pentoses de la biosphère identifiés jusqu'à présent sont le D-xylose, le D-ribose, le D-ribulose, le D-arabinose et le L-arabinose. Parmi les hexoses, le plus courant est le D-glucose. D'autres aldohexoses de la biosphère sont le D-mannose, le D-galactose et le L-galactose. Le cétohexose D-fructose est aussi très répandu. Deux oses à sept carbones, le sédoheptulose et le D-mannoheptulose complètent la liste des oses naturels à présent identifiés. On voit qu'ils appartiennent à la série D.

5. Oses aminés

Deux d'entre eux, parmi la nombreuse série des corps synthétisés, sont des produits naturels



Glucosamine
(2-désoxy-2-amino-β-D-glucose)



Galactosamine
(2-désoxy-2-amino-β-D-galactose)

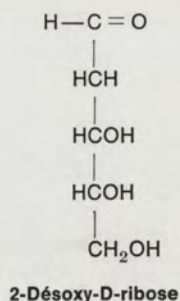
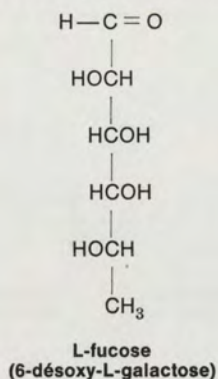
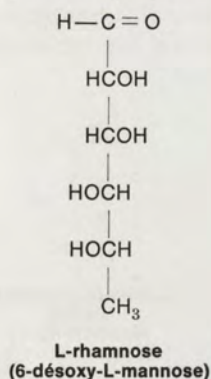
Ce sont des aldohexoses aminés en position 2.

La glucosamine est un constituant de beaucoup de polysaccharides et mucopolysaccharides, et de la chitine. La galactosamine ou chondrosamine est un constituant du cartilage.

6. Désoses

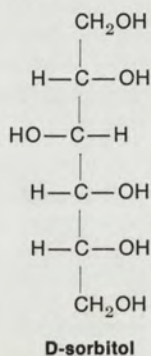
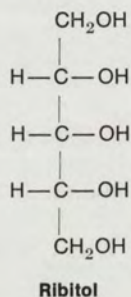
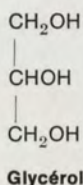
Ils résultent de l'enlèvement d'un atome d'oxygène d'un oxhydryle. Il existe un certain nombre de désoses naturels. Les principaux sont le

L-rhamnose, le L-fucose et 2-désoxy-D-ribose ou ribodésosé. Les désoses donnent la plupart des réactions des oses. Ils sont instables.

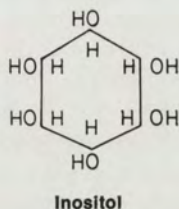


7. Polyalcools apparentés aux oses

La réduction des aldoses et des cétooses produit les alcools correspondants. La réduction du glycéraldéhyde donne naissance au glycérol, celle du ribose au ribitol et celle du glucose au sorbitol, par exemple.



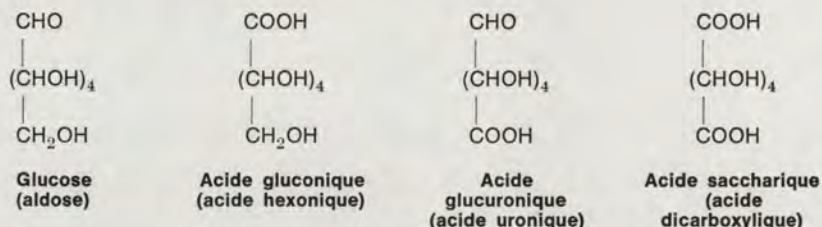
Les alcools carbocycliques du type de l'inositol sont voisins de ces polyalcools.



8. Produits d'oxydation des aldoses (polyalcools monoacides ou polyacides)

Dans des conditions déterminées, l'oxydation des aldoses donne naissance soit à des acides aldoniques résultant de l'oxydation de la

fonction aldéhyde en fonction carboxyle, soit à des acides uroniques dans lesquels, le groupement aldéhydique étant conservé, c'est l'hydroxyle primaire qui est oxydé en carboxyle et enfin à des acides dicarboxyliques, avec un carboxyle à chaque bout. Dans le cas du glucose, les molécules résultantes sont les suivantes :



De nombreux dérivés hexoniques, uroniques ou dicarboxyliques des aldoses existent dans la nature.

B. OLIGOSACCHARIDES : DIHOLOSIDES ET TRIHOLOSIDES

Ces composés sont représentés par des holosides donnant par hydrolyse deux ou trois molécules d'oses. Les dénominations de diholosides et triholosides sont synonymes de disaccharides et trisaccharides (groupes des oligosaccharides).

La condensation des oses peut s'effectuer par l'intermédiaire de leurs deux groupes réducteurs, du groupe réducteur de l'un avec un groupe alcoolique de l'autre ou encore de deux groupes alcooliques. Ce dernier mode de liaison n'est connu que dans des sucres thiols où l'union se fait par un atome de soufre.

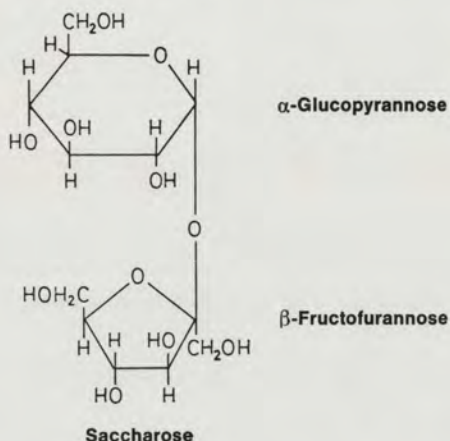
1. Diholosides non réducteurs

a) Saccharose

C'est le sucre du commerce. Il est extrait de la canne à sucre ou de la betterave. On le trouve également dans le navet, la carotte, etc. C'est un diholoside non réducteur donnant par hydrolyse une molécule de D(+) glucose et une molécule de D(-) fructose. Les deux oses sont réunis par les deux groupements réducteurs, ce qui rend compte de l'absence de pouvoir réducteur du saccharose.

Le saccharose est un α -glucoside dont la structure est celle d'un α -glucopyranose- β -fructofurannose. C'est une substance à pouvoir sucrant plus marqué que celui du glucose, cristallisant facilement, très soluble dans l'eau, moins soluble dans l'alcool. Chauffé à 160°, le saccharose donne le sucre d'orge, substance vitreuse. Chauffé à 200°, il donne une mixture brunâtre, le caramel. Son hydrolyse donne un mélange de quantités égales de glucose et de fructose. Le saccharose est dextrorotatoire. Quand il est hydrolysé, il est transformé en glucose et fructose, et comme

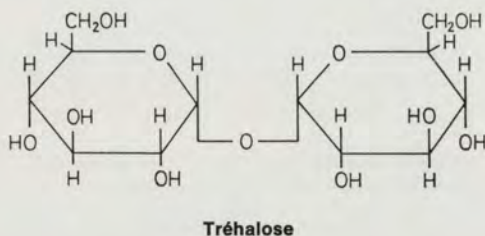
la lévoration du fructose l'emporte sur la dextrorotation du glucose (¹), le mélange est lévogyre (sucre interverti). L'invertase du suc intestinal produit cette hydrolyse, aussi bien que l'ébullition avec les acides. Le saccharose n'est pas réducteur. Il ne donne pas d'osazone. Il fermente cependant sous l'influence de la levure de bière, parce que cette dernière contient une invertase (E.N. 3.2.1.26).



Dans la molécule de saccharose, le glucose existe sous forme d' α -glucopyranose et le fructose sous forme de β -fructofuranose.

b) Tréhalose

Ce diholoside non réducteur donne, par hydrolyse, du glucose. On le trouve dans le seigle ergoté (d'où son nom primitif de mycose), dans de nombreux champignons, des algues marines, la levure de boulanger et les coques de tréhal de la Perse. Il existe également dans le bacille tuberculeux et c'est un constituant important de l'hémolymphe des insectes.



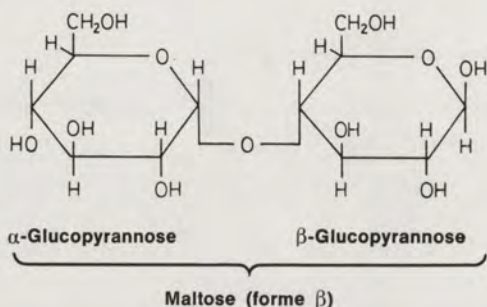
Le tréhalose est un α,α' -glucopyrannosido-glucopyrannoside qui, caractère habituel des formes « pyranose », est relativement résistant à l'hydrolyse.

(¹) En solution, le glucose se trouve sous ses deux formes pyraniques α et β et le pouvoir rotatoire du mélange correspondant à l'équilibre de mutarotation est exprimé par $[\alpha]_D = +52.2^\circ$. Le fructose est aussi sous ses deux formes α et β dans ses solutions et l'équilibre de mutarotation correspond à $[\alpha]_D = -92^\circ$. Le saccharose est dextrogyre ($[\alpha]_D = +66.67^\circ$) et le sucre interverti est lévogyre ($[\alpha]_D = -19.84^\circ$).

2. Diholosides réducteurs

a) Maltose

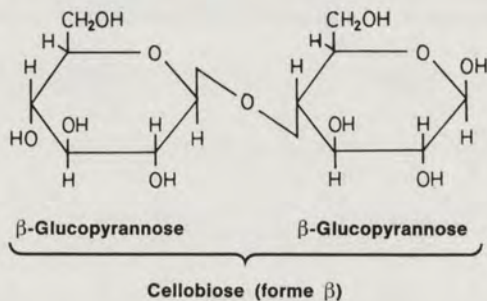
Il est préparé par hydrolyse de l'amidon. C'est le 4-D-glucopyrannose- α -D-glucopyrannoside.



Il n'est pas aussi sucré que le saccharose, est réducteur, donne une osazone caractéristique et fermente sous l'influence de la levure de bière pure. La maltase du suc intestinal et l'hydrolyse par les acides le décomposent en deux molécules de glucose. Le maltose est dextrogyre. Il existe sous une forme α et une forme β suivant la nature du groupement pseudoaldéhydrique resté libre. (Forme β : $[\alpha]_D = +118^\circ$; forme α : $[\alpha]_D = +168^\circ$; équilibre de mutarotation ; $[\alpha]_D = +136^\circ$.)

b) Cellobiose

Le cellobiose est le 4-D-glucopyrannose- β -D-glucopyrannoside. Il s'obtient par hydrolyse de la cellulose.



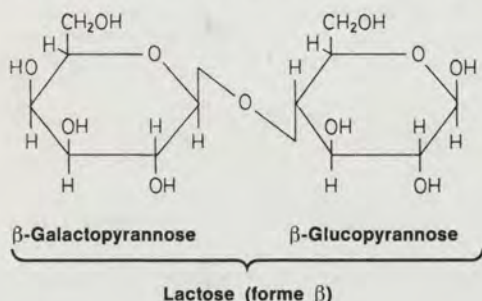
Comme le lactose et le maltose, il existe sous la forme α et la forme β et présente le phénomène de mutarotation.

c) Lactose

Le lactose, ou sucre de lait, est le 4-D-glucopyrannose- β -D-galactopyrannoside. On le trouve dans les laits des différents mammifères (4 % dans le lait de vache, 5-7 % dans le lait de femme). Quand on concentre le

petit-lait, on obtient des cristaux de lactose. Le lactose n'a pas une saveur très sucrée. Il est réducteur et donne une osazone. Il n'est pas fermentescible sous l'influence de la levure de bière pure. Son hydrolyse fournit du glucose et du galactose.

Le lactose est dextrogyre. Le pouvoir rotatoire correspondant à la forme β est exprimé par $[\alpha]_D = +35^\circ$; celui de la forme α $[\alpha]_D = +90^\circ$. L'équilibre de mutarotation correspond à $[\alpha]_D = +55,3^\circ$.



3. Triholosides naturels

Le gentianose, extrait de la racine de gentiane, et le raffinose, accompagnant le saccharose dans la betterave, sont des triholosides non réducteurs. Leur structure, ainsi que celle des diholosides qui en dérivent, est représentée en page 98.

C. POLYSACCHARIDES

Sous les dénominations de polyosides, polyholosides, polysaccharides et glucanes on range des composés, naturels pour la plupart, dont l'hydrolyse fournit presque exclusivement des oses ou des produits dérivés.

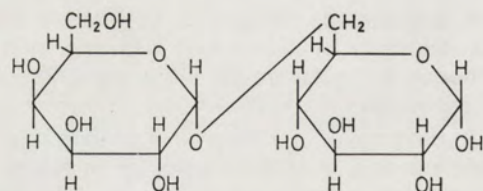
1. Polyglucoses

a) Cellulose

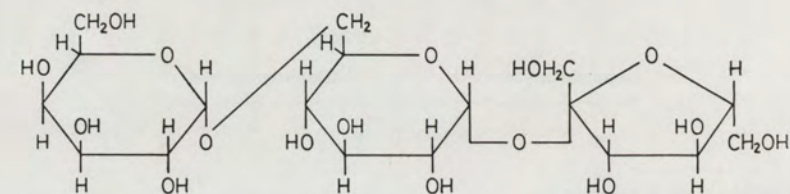
On donne le nom de celluloses à des mélanges de polymères homologues qui fournissent quantitativement du D-glucopyranose lorsqu'ils sont hydrolysés par des acides forts. La cellulose est le matériel de soutien le plus abondant chez les végétaux. Elle se trouve aussi chez beaucoup de bactéries et même chez certains animaux, comme les Tuniciers.

La cellulose existe sous la forme pure dans les poils de la graine du coton. L'hydrolyse acide complète de la cellulose en présence d'acides minéraux forts et très concentrés fournit quantitativement le D-glucopyranose. L'hydrolyse partielle ménagée, en présence d'anhydride acétique et d'acide sulfurique (acétolyse) fournit des molécules de cellobiose (4-D-glucopyranose- β -D-glucopyranoside) et des trisaccharides que l'émulsine⁽¹⁾ hydrolyse. Il apparaît donc clairement que la cellulose ne contient que des liaisons glucosidiques β 1-4. L'hydrolyse de la cellulose

⁽¹⁾ L'émulsine des amandes contient à côté des β -glucosidase (E. N. 3.2.1.21) et β -galactosidase (E. N. 3.2.1.23), une α -galactosidase (E. N. 3.2.1.22), une α -mannosidase (E. N. 3.2.1.24) et une β -glucuronidase (E. N. 3.2.1.31). Cette liste est d'ailleurs incomplète.

 α -Galactopyranose α -Glucopyranose

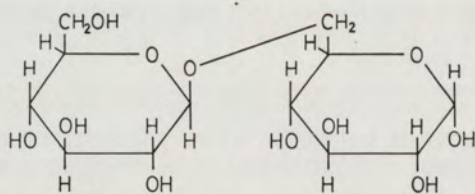
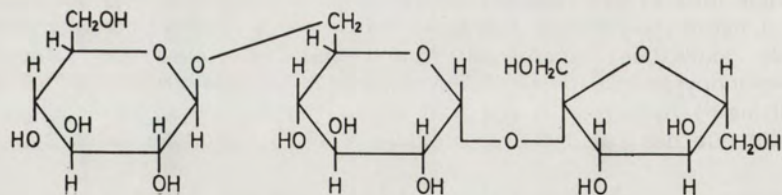
Mélbiose

 α -Galactopyranose α -Glucopyranose β -Fructofuranose

Mélbiose

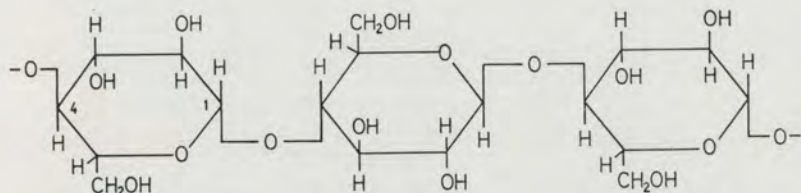
Saccharose

Raffinose

 β -Glucopyranose α -GlucopyranoseGentiobiose (forme α)

Gentianose

méthylée fournit du 2,3,4,6-tétraméthylglucopyrannose et du 2,3,6-triméthylglucopyrannose. La méthylation suivie d'hydrolyse ne fournit jamais de diméthylglucose, donc la chaîne est droite. Cette chaîne est de longueur différente selon la source de la cellulose, et les valeurs qui ont été obtenues s'échelonnent entre 1 400 et 10 000 unités de glucose. La disposition des atomes est telle que chaque résidu de cellobiose a les dimensions montrées dans la figure 6-3.



Les chaînes de cellobiose, disposées selon le réseau représenté dans la figure 6-3, sont groupées en faisceaux, les micelles de cellulose, qui

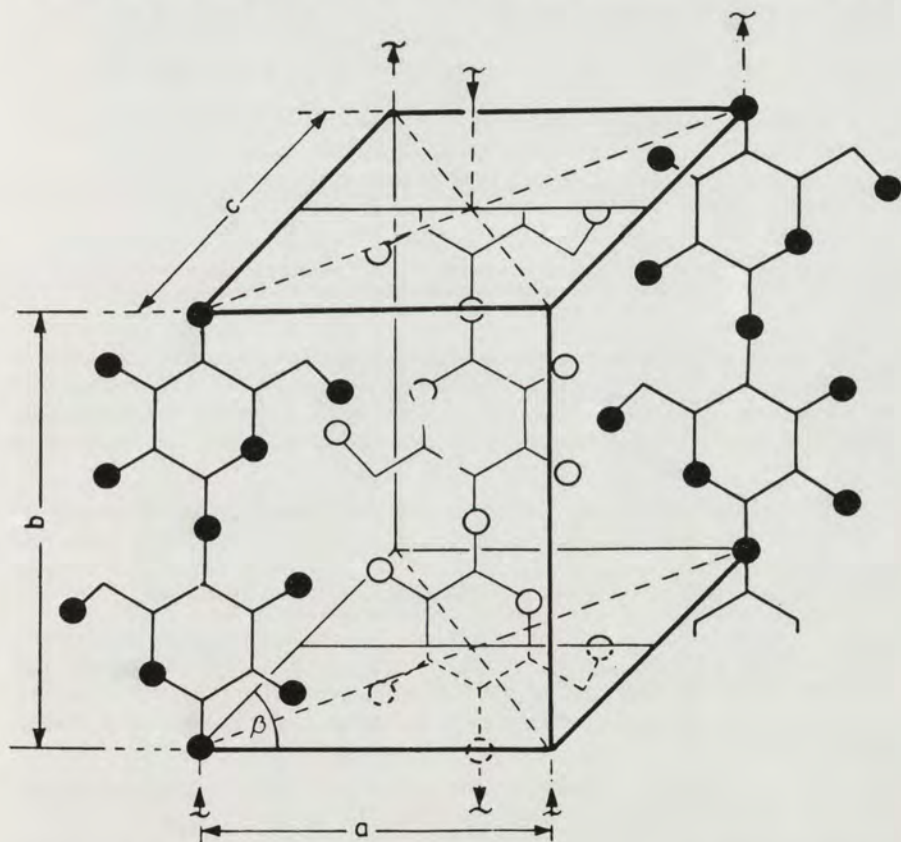


FIG. 6-3. Configuration spatiale des molécules de cellobiose dans le réseau cristallin de cellulose. $a = 8.2 \text{ \AA}$, $b = 10.3 \text{ \AA}$, $c = 7.9 \text{ \AA}$ et $\beta = 83^\circ$ (d'après Meyer et Misch).

ont environ 50 Å d'épaisseur et au moins 600 Å de longueur. Le groupement de ces micelles est représenté dans la figure 6-4, tel qu'il existe dans des structures où les cristallites sont parallèles.

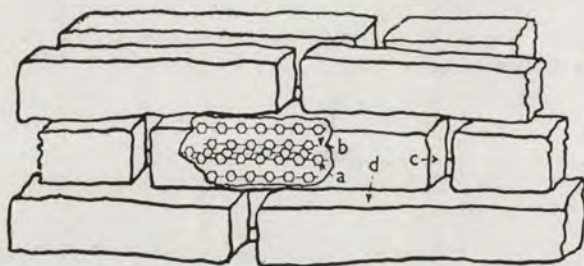


FIG. 6-4. Orientation des micelles dans un bloc de cellulose (d'après Seifriz).

Dans certains cas, les micelles sont orientées au hasard, comme par exemple dans la cellophane (Fig. 6-5).

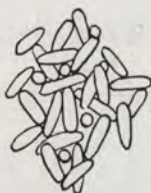


FIG. 6-5. Orientation des micelles de cellulose dans la cellophane (d'après Mark).

b) Amidon

La plus abondante réserve glucidique des végétaux et des micro-organismes est l'amidon qui, à l'hydrolyse, se transforme quantitativement en D-glucose. Les molécules de glucose sont, dans la macromolécule d'amidon, associées par des liaisons glucosidiques α 1-4. On isole de la plupart des amidons deux constituants :

— un polysaccharide en chaîne droite, l'amylose, que l'iode colore en bleu. Il est composé de chaînes droites de longueurs variables, dans lesquelles des unités de glucose, dont le nombre varie selon les chaînes entre 100 et 2 000, sont unies par des liaisons α 1-4 (maltose) ;

— un polysaccharide ramifié fortement, l'amylopectine, que l'iode colore en violet. Ses rameaux latéraux s'attachent à ses branches principales par des liaisons α 1-6 (isomaltose). Quant aux chaînes latérales elles-mêmes, elles sont, comme la chaîne principale, construites sur le type de la liaison glucosidique α 1-4.

Certains amidons, cependant, ne contiennent que de l'amylopectine. C'est le cas pour ceux que fournissent le maïs et le riz.

Quand l'amidon est formé d'amylopectine et d'amylose, la proportion de cette dernière, comme la longueur de ses chaînes, varie selon la source.

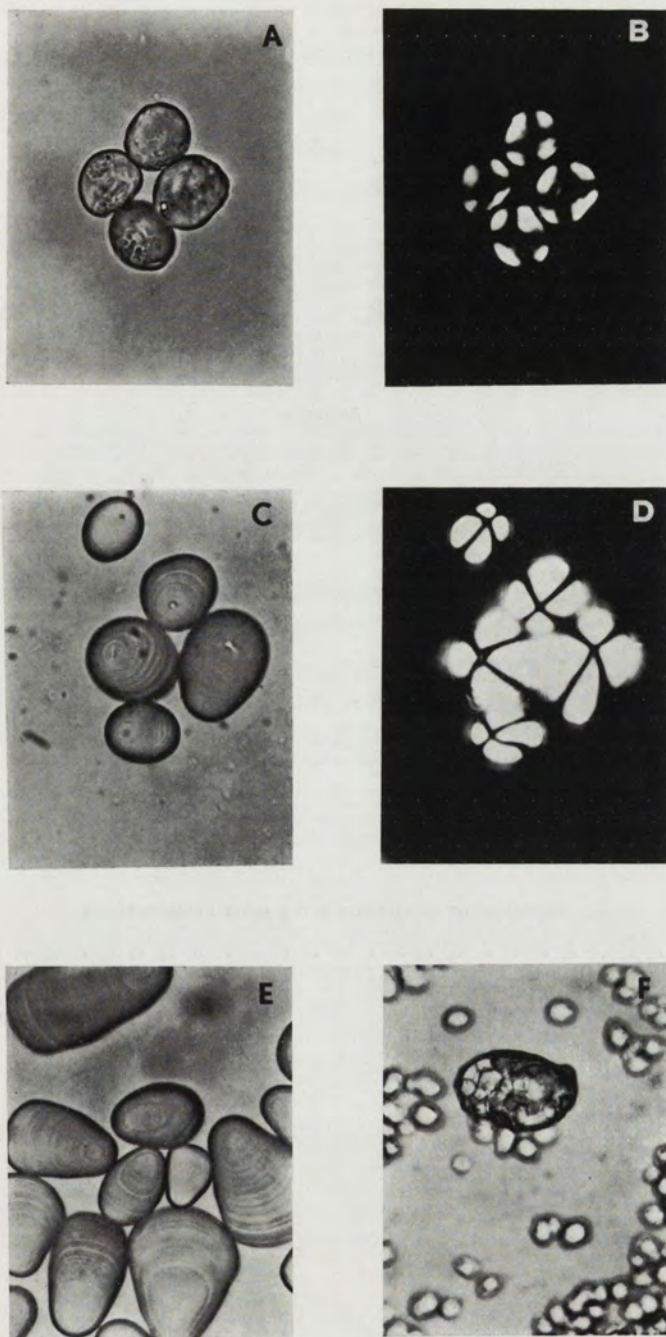
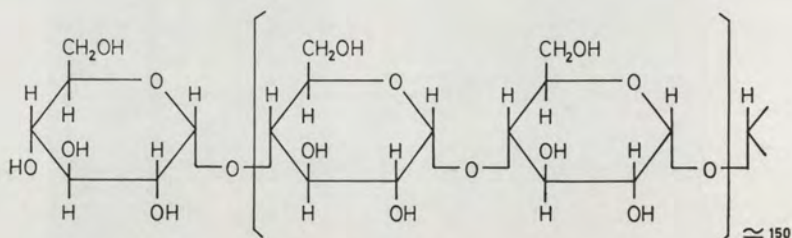


FIG. 6-6. Divers types de grains d'amidon : A, de la graine de blé ; B, les mêmes en lumière polarisée ; C, du tubercule de la pomme de terre ; D, les mêmes en lumière polarisée ; E, du tubercule du lys royal ; F, de la graine de maïs. En A, C, E et F, notez la présence de stries concentriques autour d'un point initial, le hile. $\times 235$ (d'après Sandstedt).



c) Glycogène

Le glycogène, réserve majeure de glucides chez les animaux, est un polysaccharide ramifié voisin de l'amylopectine, et dont l'unité est le D-glucose. Il se colore en brun par l'iode et il est soluble dans l'eau



Amylose

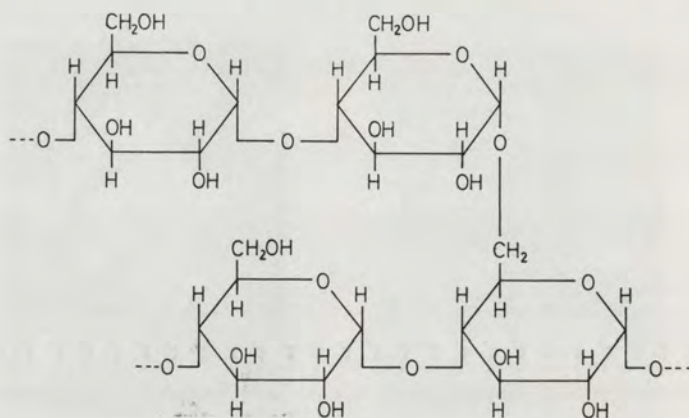
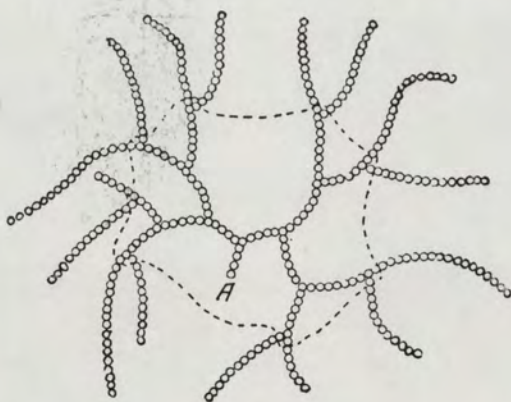
Ramification par liaison α 1-6 dans l'amylopectine

FIG. 6-7. Structure de l'amylopectine.

o = résidu de glucose. A = groupe réducteur.

La ligne pointillée montre la limite de l'hydrolyse accomplie par la β -amylase (E. N. 3.2.1.2) attaquant la macromolécule à la surface (d'après Meyer et Bernfeld).

(15 à 20 %). Le glycogène est plus ramifié que l'amylopectine et il contient par conséquent une plus forte proportion de liaisons glucosidiques α 1-6.

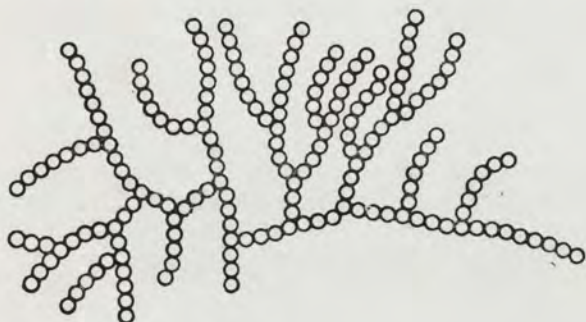


FIG. 6-8. Structure du glycogène (d'après K. H. Meyer).

d) Autres polyglucoses

On en trouve une grande variété dans la biosphère. En voici quelques exemples :

Lichénine des lichens (chaîne droite ; 30 % de β 1-3 ; 70 % de β 1-4).

Laminarine des laminaires (chaîne droite ; β 1-3 ; en moyenne 20 résidus).

Polyglucoses de *Betabacterium* vermiforme (α 1-6 ; 25 résidus).

Polyglucoses de *Phytomonas tumefaciens* (β 1-2 ; 22 unités).

Polyglucoses du squelette cellulaire de la levure (36 unités).

Polyglucoses de *Leuconostoc mesenteroïdes* (3-24 unités).

Polyglucoses de *Leuconostoc dextranicum* (chaîne droite ; α 1-6 ; 200-500 unités).

2. Polymères d'autres aldoses et cétooses

a) Galactanes

Fréquents chez les végétaux (bois, graines, etc.). Le galactane de lupin en est un exemple. Il est construit sur le type de la liaison β 1-4 et il est formé d'environ 120 unités de galactose.

b) Mannanes

Ils sont souvent présents dans le bois, par exemple dans celui des conifères dont il n'est pas facile de les séparer. Les mannanes du bois de l'épicéa et du bois de pin sont composés de résidus de mannose associés en chaînes droites d'environ 200 résidus. Le mannane de la levure est, au contraire, très ramifié, et il n'est pas homogène. Le nombre des molécules de mannose composant ses chaînes varie entre 90 et 830.

c) Fructosanes et levanes

L'inuline des tubercules de nombreuses compositacées est constituée par une macromolécule linéaire, formée d'environ 35 résidus de D-fructose,

comportant à l'extrémité réductrice un résidu de D-glucose. Un grand nombre de fructosanes (asparagosine, graminine, triticine, etc.) ont été isolés à partir des végétaux. Ils sont, comme l'inuline, des macromolécules linéaires, tandis que chez les bactéries, les polysaccharides du fructose, également très nombreux, sont des macromolécules fortement ramifiées appelées lévanes.

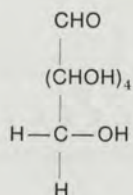
d) Xylanes

Très répandus chez les végétaux. Un exemple est fourni par les composants des membranes lignifiées. Ce sont des macromolécules ramifiées, formées de résidus de D-xylose associés en 1-4'. L'hydrolyse de certains xylanes fournit aussi de l'arabinose.

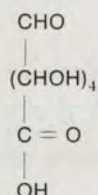
3. Polyuronides

Ils se distinguent des polyoses parce que leurs monomères sont des produits d'oxydation des oses, les acides uroniques, dans lesquels le groupement aldéhydique est conservé, l'hydroxyle primaire étant oxydé avec formation d'un carboxyle.

Exemple :

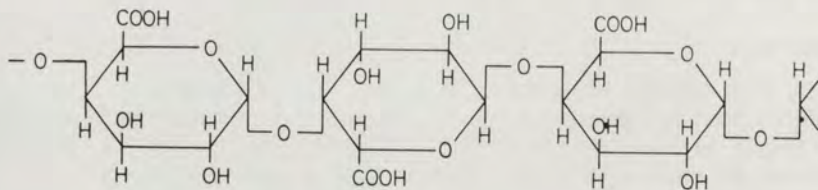


Glucose



Acide glucuronique
(un acide uronique)

Le groupe le plus nombreux, parmi les polyuronides, est celui des « substances pectiques » ou de la « pectine », dont le constituant principal



Acide pectique (acide polygalacturonique)

est l'acide pectique, constitué par une chaîne droite de molécules d'acide D-galacturonique, unies principalement par l'intermédiaire de liaisons α -1:4.

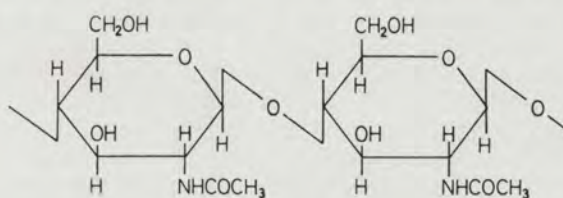
4. Polyglucosamines

Dans cette catégorie, on range les polymères d'osamines.

La chitine, constituant des squelettes d'arthropodes, des champignons, etc., appartient à cette catégorie.

L'hydrolyse par les acides bouillants fournit de la glucosamine et de l'acide acétique en proportions équivalentes. Une hydrolyse plus ménagée, accomplie au moyen de chitinase, fournit uniquement de la N-acétylglucosamine, c'est-à-dire la glucosamine acétylée au niveau de son groupe aminé.

On a pu retirer des produits de l'hydrolyse ménagée un disaccharide, le chitobiose, identique au cellobiose (à part le fait que le carbone 2 de chaque unité glucose du chitobiose porte un groupe acétylamine).



Chitobiose

5. Polymères mixtes

Il s'agit de polymères mixtes formés d'oses et d'acides uroniques.

a) Gommages et mucilages

Il est malaisé d'établir entre ces deux catégories de macromolécules une distinction nette. Les gommages que laissent exsuder les écorces sous la forme de « gomme arabique » sont des sels d'hétéropolyuronides. Toutefois, comme dans le cas de mucilages qui gonflent dans l'eau comme celui de la graine de lin, il s'agit de molécules ramifiées très complexes, dans lesquelles entrent divers oses. On trouve par exemple dans la gomme arabique l'arabinose, le galactose, le rhamnose, l'acide glucuronique, etc., tandis que dans le mucilage de la graine de plantain on a pu déceler la présence d'acide galacturonique, de rhamnose, de galactose, d'arabinose, de xylose, etc.

b) Mucopolysaccharides

Ces polymères d'acides uroniques et d'osamines sont toujours associés à des quantités de protides qui, si elles sont toujours faibles, sont constamment présentes, et ne sont pas négligeables.

i) Acide hyaluronique

Ce polysaccharide est très répandu, soit sous sa forme libre, soit en combinaison saline avec des protéines. Il est la substance de base du tissu conjonctif des animaux.

L'acide hyaluronique est un polysaccharide complexe contenant des proportions équivalentes de D-glucosamine, d'acide D-glucuronique et d'acide acétique combiné à la glucosamine sous la forme de N-acétyl-D-glucosamine.

ii) *Héparine*

L'héparine est un ester sulfurique d'un polysaccharide contenant de l'acide D-glucuronique et de la D-glucosamine.

iii) *Acide chondroïtinesulfurique*

C'est un ester sulfurique d'un polysaccharide dont les constituants principaux sont l'acide D-glucuronique et la N-acétylchondrosamine. Le cartilage hyalin des vertébrés est la combinaison de l'acide chondroïtine-sulfurique avec une protéine, la liaison intéressant les groupes —COOH et $\text{—SO}_3\text{H}$ de l'acide chondroïtinesulfurique et les groupes —NH_2 de la protéine.

iv) *Acide mucoïtinesulfurique*

Il est semblable au précédent, avec cette différence que la chondrosamine est remplacée par la D-glucosamine. On le trouve dans beaucoup de tissus animaux.

6. Polysaccharides des bactéries

a) *Pneumocoques*

Ces polysaccharides commandent le type spécifique immunologique par leur présence dans les capsules de pneumocoques. Leurs constituants sont le D-glucose, l'acide D-glucuronique, des acides aldobiuroniques et des sucres aminés. Les proportions varient d'un type à un autre et certains des constituants peuvent manquer.

Exemples de constituants mis en évidence :

Type I. Acide galacturonique, une acétylhexosamine.

Type II. D-glucose, acide D-glucuronique, L-rhamnose.

Type III. D-glucose et acide D-glucuronique.

Type IV. N-acétylhexosamine, galactose.

b) *Autres microorganismes*

De nombreux mucopolysaccharides de microorganismes ont été récemment étudiés. Le lutéose du *Penicillium luteum*, par exemple, est un poly-D-glucose dans lequel les liaisons glucosidiques sont du type β 1-6.

L'antigène complexe de la bactérie typhique, *Eberthella typhosa*, isolé de la bactérie, est une chaîne complexe de soixante unités hexoses, avec 50 % de D-glucose, 25 % de D-mannose et 25 % de D-galactose. La tuberculine, ou milieu de culture concentré de *Mycobacterium tuberculosis*, contient un polysaccharide contenant du D-arabinose, du D-mannose et du D-galactose et en outre un peu de D-glucosamine. Dans le mucopolysaccharide de *Corynebacterium diphtheriae*, on trouve le D-galactose, le D-mannose et le D-arabinose.

Plusieurs mucopolysaccharides ont été isolés à partir du *Penicillium charlesii*, cultivé sur D-glucose. Le mannocarolose, l'un de ces produits, est un mannane en chaîne droite à liaisons 1-6, tandis que le galactocarolose, tiré de la même source, est un galactane à chaînes droites de liaisons 1-5.

7. Polysaccharides des groupes sanguins

La spécificité des groupes sanguins est déterminée par l'existence de macromolécules constituées en grande partie de polysaccharides et d'autres espèces moléculaires, par exemple des acides aminés.

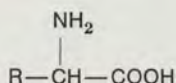
III. PROTÉINES

Les protéines sont des macromolécules dont l'hydrolyse fournit un mélange d'acides aminés. Quelle que soit leur origine biologique, elles sont toujours construites au moyen d'une série de 20 acides α -aminés de configuration L-, principalement réunis par l'intermédiaire de liaisons peptidiques.

A. ACIDES AMINÉS

1. Définition

Les acides aminés sont définis par la présence, dans la même molécule, d'un carboxyle et d'une fonction amine. Le nombre des substances que le chimiste organicien peut synthétiser dans cette catégorie est très grand, mais la biosphère n'en connaît qu'un échantillonnage réduit. Les acides aminés ont généralement le groupe aminé en position α ⁽¹⁾ par rapport au carboxyle, et leur formule générale est donc



⁽¹⁾ En plus du carboxyle en position α (par rapport au carbone qui porte le groupe NH_2 et qu'on appelle le carbone central), deux acides aminés possèdent un carboxyle supplémentaire au bout de leur chaîne carbonée. Ce carboxyle est en position β (par rapport au carbone central) dans le cas de l'acide aspartique et en position γ dans le cas de l'acide glutamique.

Tableau 6-1

ACIDES α -AMINÉS

Symboles indiquant les caractères du radical R de la formule générale :

Al = aliphatique
Ar = aromatique
Hc = hétérocyclique

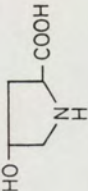
A = acide
B = basique
N = neutre

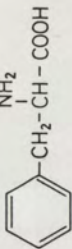
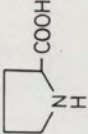
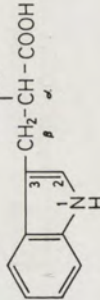
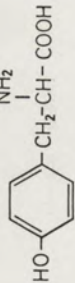
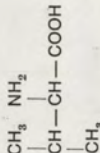
P = polaire
FP = faiblement polaire
NP = non polaire

Le nombre entre parenthèses représente le poids moléculaire

I = ionique
FI = faiblement ionique
NI = non ionique

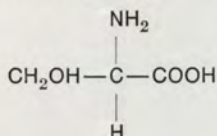
Nom		Nature du radical R	Formule
L (+) Alanine (Ala), acide α -aminopropionique	(89)	méthyle (Al, N, NP, NI)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
L (+) Arginine (Arg), acide α -amino- δ -guanidino-n-valérique	(174)	ω -guanidino-n-propyle (Al, B, P, I)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \delta \quad \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \text{NH} \quad \text{Y} \quad \beta \quad \alpha \\ \quad \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
Acide L (—) aspartique (Asp), acide α -aminosuccinique	(133)	carboxyméthyle (Al, A, P, I)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
L (—) Cystéine (CySH), acide α -amino- β -thiolpropionique	(121)	méthylthio (Al, N, P, FI)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
L (—) Cystine (CyS), acide β , β' -dlthio-bis (α -aminopropionique)	(240)	diméthyldisulfure (Al, N, NP, NI)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$

Nom	Nature du radical R	Formule
Acide L (+) glutamique (Glu), acide α -aminoglutarique (147)	carboxyéthyle (Al, A, P, I)	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Glycine ou Glycocolle (Gly), acide aminoacétique (75)	H (Al, N, NP, NI)	$\text{H}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L (—) Histidine (His), acide α -amino- β (5)-imidazole/propionique (155)	imidazole/méthyle (Hc, B, P, I)	NH_2  $\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$
L (—) Hydroxyproline (Hypro), acide 4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylique (131)	(Hc, N, P, NI)	
L (+) Isoleucine (Ileu), acide α -amino- β -méthyl-n-valérique (131)	α -méthyl-l-n-propyle (Al, N, NP, NI)	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L (—) Leucine (Leu), acide α -amino-isocaproïque (131)	isobutyle (Al, N, NP, NI)	CH_3 $\text{CH}-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}_2}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L (+) Lysine (Lys), acide α - ϵ -diamino-n-caproïque (146)	ω -amino-n-butyle (Al, B, P, I)	NH_2 ϵ δ γ β α $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$

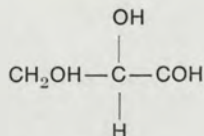
Nom	Nature du radical R	Formule
L (—) Méthionine (Met), acide α -amino-méthylthiol-n-butyrique	méthylthioéthyle (Al, N, P, Ni)	$\text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L (+) Phénylalanine (Phe), acide α -amino- β -phénylpropionique	benzyle (Ar, N, NP, Ni)	
L (—) Proline (Pro), acide pyrrolidine-2-carboxylique	(Hc, N, NP, Ni)	
L (—) Sérine (Ser), acide α -amino- β -hydroxypropionique	hydroxyméthyle (Al, N, P, Ni)	$\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L (—) Thréonine (Thr), acide α -amino- β -hydroxybutyrique	hydroxyéthyle (Al, N, P, Ni)	$\text{CH}_3-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
L (—) Tryptophane (Try), acide α -amino- β (3)-indolpropionique	scatolye (Hc, Ar, N, NP, Ni)	
L (—) Tyrosine (Tyr), acide α -amino- β (p-hydroxyphényl) propionique	p-hydroxybenzyle (Ar, N, FP, Fi)	
L (+) Valine (Val), acide α -aminoisovalérique	isopropyle (Al, N, NP, Ni)	

2. Acides aminés universellement présents dans la biosphère

Chez tous les êtres vivants qui ont été étudiés sous ce rapport, on trouve les vingt acides aminés énumérés dans le tableau 6-1. Les acides aminés naturels peuvent être considérés comme des dérivés de la L-sérine, apparentée au L-glycéraldéhyde.



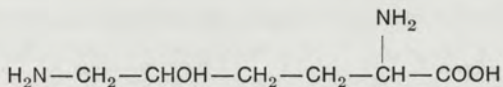
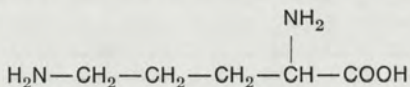
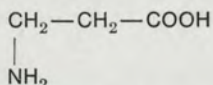
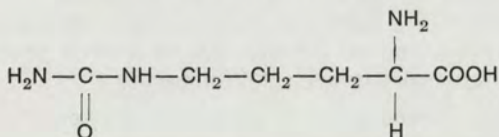
L-sérine



L-glycéraldéhyde

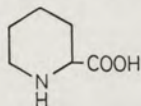
3. Acides aminés occasionnels

Outre les vingt acides aminés, tous L- α aminés, universellement présents dans les cellules vivantes, on trouve ici ou là tel ou tel autre acide aminé particulier. Parmi ces acides aminés occasionnels, on trouve les suivants :

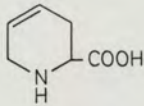
Hydroxylysine (acide α,ϵ -diamino- δ -hydrocaproïque)Ornithine (acide α,δ -diamino-valérique) β -Alanine (acide β -amino-propionique)Citrulline (acide α -amino-carbamidovalérique)

et beaucoup d'autres : octopine, acide α -aminobutyrique, acide djenkolique, β -thiolvaline, canavanine, etc.

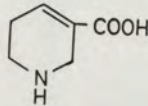
On trouve aussi de nombreux iminoacides, tels que l'acide pipécolique, la baikiaïne, la guvacine, etc.



Acide pipécolique



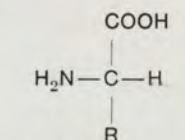
Baikiaïne



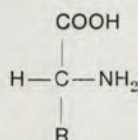
Guvacine

4. Stéréoisomérisie

Alors que les oses naturels sont le plus souvent de la série D, les acides aminés naturels, quel que soit le sens de leur activité optique, appartiennent généralement à la série L.



Forme L, naturelle

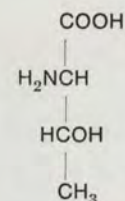


Forme D

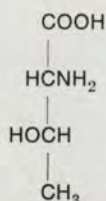
Toutefois, il existe des acides aminés universels ou occasionnels, contenant, outre le carbone α , un second carbone asymétrique (thréonine, hydroxyproline, isoleucine, hydroxylysine). Ces acides aminés peuvent donc théoriquement exister sous quatre formes isomères.

Considérons, par exemple, le cas de la thréonine.

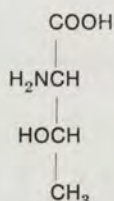
Les quatre stéréoisomères auront les formules suivantes :



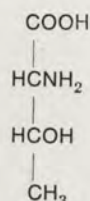
L-thréonine



D-thréonine



L-allothréonine



D-allothréonine

On réserve la dénomination L- à la forme qu'on trouve dans les protéines. Son isomère optique quant aux atomes de carbone α et β sera désigné par le préfixe D-. Quant aux autres isomères, qui forment également un couple d'isomères optiques, mais qui sont, par rapport aux autres, des diastéréoisomères, on les dénote par le préfixe allo, comme il est indiqué ci-dessus dans le cas de la thréonine ⁽¹⁾.

S'il est vrai que, d'une manière générale, les acides aminés naturels sont des acides α -aminés de la série L-, il arrive qu'on trouve exceptionnellement dans des organismes, le stéréoisomère de la série D-, la D- β -thiolvaline, la D-leucine, la D-alanine, etc.

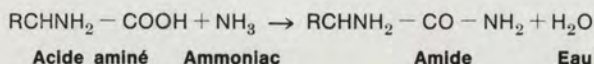
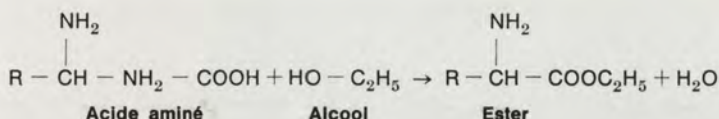
5. Propriétés chimiques des acides aminés

Ils possèdent les propriétés conférées par le carboxyle et par le groupement aminé.

⁽¹⁾ Dans le cas de la cystine, il y a aussi deux atomes de C asymétriques, mais comme la cystine est formée par la réunion de deux molécules de cystéine, on n'a, comme dans le cas de l'acide tartrique, que trois isomères : LL, DD et méso, la forme méso étant optiquement inactive.

a) Propriétés résultant de la présence du carboxyle

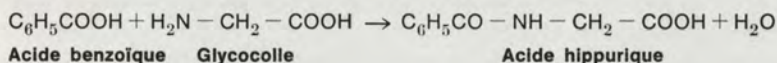
Elle permet la formation d'esters avec des alcools, et d'amides avec l'ammoniac ou les amines.



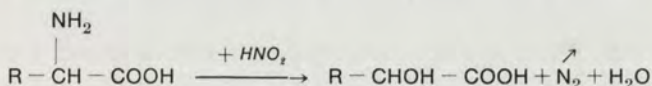
Le groupement carboxyle est généralement décarboxylé si on chauffe prudemment dans un solvant inerte, et on obtient l'amine ayant un atome de carbone en moins.

b) Propriétés résultant de la présence du groupement aminé

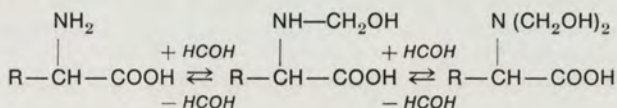
Comme l'ammoniaque, il donne des sels. De même que le carboxyle peut, avec l'ammoniac et les amines, former des amides, le groupement aminé peut former des amides avec les acides :



Traités par HNO_2 , les acides aminés donnent des acides-alcools avec élimination d'azote



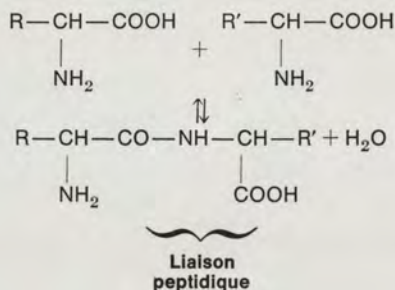
Avec le formol, les acides aminés réagissent comme suit :



C'est sur cette réaction que repose la formol-titration des acides aminés. On ajuste d'abord la réaction à une alcalinité définie. L'addition du formol supprimant l'influence des groupes aminés, la réaction est déplacée vers l'acidité. On titre avec une solution alcaline, jusqu'à retour à l'alcalinité initiale.

c) *Propriétés résultant de la présence des deux groupements*

La présence d'un carboxyle et d'un groupement aminé permet la formation d'une liaison amide entre deux acides aminés, liaison à laquelle on donne plus spécialement le nom de liaison peptidique.

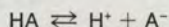
d) *Autres propriétés*

Outre les propriétés que lui confèrent la présence du groupement aminé et celle du carboxyle portés par l'atome de carbone α , chaque acide aminé présente les propriétés particulières de son radical propre (R dans le tableau 6-1).

6. Ionisation des acides aminés

a) *Ionisation des acides et des bases faibles*

Selon la conception de Brönsted, un acide HA se dissocie en une base A^- et un ou plusieurs protons



La constante de dissociation K_a est la constante d'équilibre :

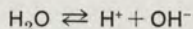
$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = \frac{[\text{H}^+][\text{sel}]}{[\text{acide}]}$$

K_a est égal à $[\text{H}^+]$ lors de la demi-neutralisation puisque, à ce moment

$$\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = 1.$$

La force d'un acide est proportionnelle à la valeur de K_a . Ce dernier peut avoir une valeur si grande qu'il n'est pas possible de la mesurer. C'est le cas pour les acides forts comme HCl ou H_2SO_4 qui, pratiquement, sont totalement dissociés.

L'eau pure et neutre est pour une part très minime dissociée en ions H^+ et OH^- .



$$\frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} = K \text{ (constante de dissociation)}$$

(les symboles entre crochets représentent des concentrations, en molécules-g/l ou en atomes-g/l).

H_2O est si grand par rapport au produit $H^+ \times OH^-$ qu'on peut considérer ce dernier comme une constante et écrire

$$[H^+][OH^-] = K = 1 \times 10^{-14}$$

Dans l'eau pure et neutre, par conséquent

$$[H^+] = [OH^-] = 1 \times 10^{-7}$$

La concentration des ions H^+ dans l'eau pure correspond donc à 1×10^{-7} ion-g/l et le $pH = 7$.

Une solution aqueuse dont le pH est plus grand que 7.0 est une solution dans laquelle la concentration en ions OH^- l'emporte sur celle des ions H^+ (puisque $H^+ \times OH^- = 10^{-14}$), c'est-à-dire une solution alcaline. Une solution aqueuse dont le pH est moindre que 7.0 est une solution dans laquelle la concentration des ions H^+ est plus élevée que celle des ions OH^- , c'est-à-dire une solution acide. Ajoutons à un litre d'eau 1/10 de molécule-g de HCl (3.6 g). L'acide chlorhydrique, acide fort, est totalement dissocié. On a ajouté 0.1 g d'ions H^+ ou 0.1 ion-g. Ces ions H^+ seront en partie pris par des ions OH^- pour former de l'eau mais, comme nous l'avons dit, la concentration des ions OH^- est très faible et les ions H^+ fixés ne changeront que faiblement la valeur des ions H^+ restant libres parmi les H^+ introduits tandis que la valeur des OH^- sera nettement modifiée

$$H^+ = 0,1 = 10^{-1}$$

$$OH^- = \frac{10^{-14}}{10^{-1}} = 10^{-13}$$

Le pH sera approximativement égal à 1.0, c'est-à-dire que l'addition de l'acide aura modifié le pH à concurrence de 6 unités, ce qui signifie que la concentration en ions H^+ sera devenue 1 million de fois plus forte.

Si on ajoute à de l'eau seulement 1/100 000 de molécule-g de HCl (0.36 mg), le pH passera de la valeur 7 à la valeur 5, c'est-à-dire que la concentration en ions H^+ aura été, à la suite de cette addition de moins d'un demi-mg de HCl , multipliée par 100.

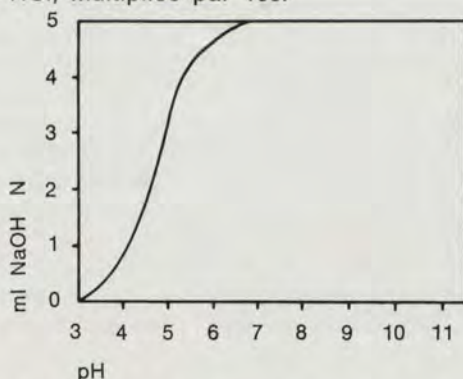
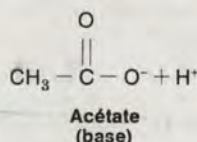
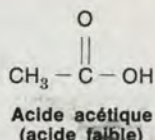


FIG. 6-9. Cette figure montre comment le pH de 50 ml d'une solution d'acide acétique 0.1 N se modifie lors de l'addition de $NaOH$ normal. La résistance au changement de pH est maximum dans une région au milieu de laquelle se situe la valeur du pK' (4.7). Quand le pH devient plus alcalin que 8.0, de nouvelles additions de $NaOH$ provoquent les mêmes modifications que lors de l'addition à l'eau pure. Au lieu de titrer l'acide acétique par la soude, on peut titrer l'acétate (base) par HCl , par exemple. Dans ce cas la courbe se déroulera en sens inverse et lorsque le pH 2.0 sera atteint, de nouvelles additions de HCl provoqueront les mêmes modifications que lors de leur addition à de l'eau pure.

Supposons qu'au lieu d'avoir affaire à de l'eau, nous ayons une solution décinormale d'acide acétique. L'acide acétique est un acide faible, c'est-à-dire un acide qui est non pas complètement dissocié, mais plus ou moins dissocié. Brønsted appelle l'ion acétate une base, c'est-à-dire, dans sa terminologie, une substance qui se combine avec H^+ , alors qu'il donne le nom d'acide faible à l'acide acétique, qui peut libérer des ions H^+



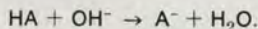
L'acide acétique décinormal a un pH égal non à 1, comme serait celui de l'acide chlorhydrique décinormal ($[H^+] = 0.1 = 10^{-1}$), mais un pH de 3 environ ($[H^+] = 0.001 = 10^{-3}$) : c'est le résultat du fait que l'acide acétique est beaucoup moins dissocié (seulement une molécule sur 100 dans la solution décinormale). De cette solution décinormale, prélevons 50 ml que nous placerons dans un becher, et au moyen d'une burette, introduisons de la soude normale en suivant au moyen d'un pH-mètre la variation du pH et en nous arrêtant chaque fois que nous avons fait varier le pH d'une unité. Nous constaterons (Fig. 6-9) que pour faire passer le pH de 4 à 5, nous devons ajouter plus de soude que pour le faire passer de 3 à 4. Mais nous devons ajouter moins de soude pour passer du pH 5 au pH 6 que du pH 4 au pH 5, moins encore pour passer de 6 à 7 et moins encore de 7 à 8. Une goutte (0.05 ml) de NaOH, dans le cas de la burette utilisée, introduisant 0.05 mEq de OH^- dans 50 ml, soit 0.001 Eq/l, fera passer alors le pH à la valeur de 11.0.

En effet, avant l'addition de cette goutte

$$[H^+] = 10^{-8} \text{ (pH 8.0)} \text{ et } [OH^-] = \frac{10^{-14}}{10^{-8}} = 10^{-6}.$$

L'addition de la goutte de NaOH fera passer la concentration de $[OH^-]$ à 10^{-3} , ce qui correspond à une concentration en $[H^+] = 10^{-14}/10^{-3} = 10^{-11}$ (pH 11.0). Dès que nous sommes arrivés au pH 8.0, correspondant à la neutralisation des 50 ml d'acide acétique 0.1 N (contenant 0.005 Eq) par les 5 ml de NaOH N (contenant aussi 0.005 Eq), l'addition de la soude à la solution a le même effet que son addition à l'eau pure. En effet, à partir de ce moment l'acide acétique est complètement neutralisé et nous avons une solution d'acétate sodique.

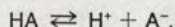
Pourquoi, dans la région des pH situés entre 3 et 8, avons-nous dû ajouter des quantités relativement grandes de soude pour faire varier le pH d'une unité ? C'est parce que, dans cette région, les OH^- étaient pris par l'acide acétique selon l'équation



Toutefois, pour comprendre la forme en S symétrique de la figure 6-9, nous devons entrer dans un peu plus de détails.

Un acide faible est plus ou moins faible, c'est-à-dire plus ou moins dissocié avec libération de H^+ . Moins il en libère et plus il est faible.

Pour définir la force d'un de ces acides, on recourt à la réaction de dissociation



H^+ et A^- sont libérés à partir de l'acide faible HA jusqu'à ce que leurs concentrations soient assez élevées pour que la réaction de combinaison de A^- et H^+ se déroule à la même vitesse que la réaction de dissociation. L'équilibre est défini, selon la loi d'action de masse, par la constante K

$$\frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} = K. \quad (6-1)$$

Plus l'acide se dissociera avant que la vitesse de combinaison ne devienne égale à la vitesse de dissociation, plus K sera grand et plus l'acide sera fort.

De (6-1) nous tirons

$$[\text{H}^+] = K \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \quad (6-2)$$

ou, en langage logarithmique :

$$\log [\text{H}^+] = \log K + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \quad (6-3)$$

changeant de signes, nous obtenons

$$-\log [\text{H}^+] = -\log K - \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}. \quad (6-4)$$

Puisque $-\log [\text{H}^+] = \text{pH}$, nous pouvons aussi remplacer $-\log K$ par pK et écrire (plus l'acide sera fort et moins pK sera grand)

$$\text{pH} = \text{pK} - \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}. \quad (6-5)$$

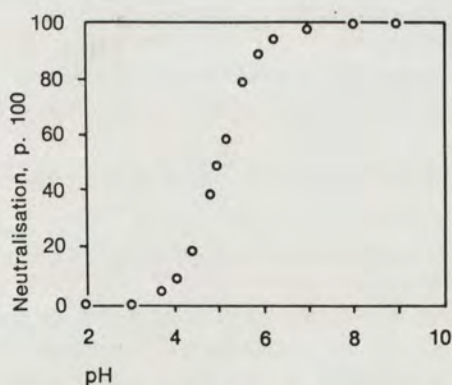


FIG. 6-10. Valeurs du pH calculées, pour différents degrés de neutralisation d'un acide faible, selon la loi d'action de masse. La forme sigmoïde, qui s'observe dans l'expérimentation, correspond à la courbe calculée en partant de la loi d'action de masse. La courbe a la même forme pour tous les acides faibles. Elle sera située d'autant plus à droite dans le graphique que la valeur du pK sera élevée.

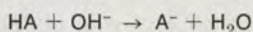
Comme

$$-\log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} = \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

l'équation (6-5) peut aussi s'écrire

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (6-6)$$

Lorsqu'on ajoute NaOH à une solution d'acide acétique on modifie les proportions relatives de A^- et de HA



et c'est de cette proportion relative que dépend le pH.

Si nous considérons, par exemple (Fig. 6-10), un acide faible HA dont le $\text{pK} = 5.0$, et si nous ajoutons assez de NaOH pour convertir 50 % de cet acide en A^- , le pH sera égal à : $5.0 + \log 50/50 = 5.0 + 0.0 = 5.00$. Le pK correspond en effet à la valeur du pH observée lors de la demi-saturation de l'acide.

Dans le cas d'un acide dont le pK est 5.0, quelle sera la valeur du pH correspondant à la neutralisation de 80 % de HA, c'est-à-dire à la transformation de 80 % de HA en A^- ? La réponse est

$$5.0 + \log 80/20 = 5.0 + 0.60 = 5.60.$$

Si nous calculons le pH correspondant à la transformation de 20 % de HA en A^- , nous obtenons

$$5.0 + \log 20/80 = 5.0 - \log 80/20 = 4.40.$$

De la même manière, nous pouvons calculer les pH correspondant respectivement à 90 et à 100 % de la neutralisation

$$5.0 + \log 90/10 = 5.0 + 0.95 = 5.95$$

$$5.0 + \log 10/90 = 5.0 - \log 90/10 = 5.0 - 0.95 = 4.05.$$

Comme aussi les pH correspondant à 99 et à 1 % de la neutralisation :

$$5.0 + \log 99/1 = 5.0 + 2.0 = 7.0$$

$$5.0 + \log 1/99 = 5.0 - \log 99/1 = 5.0 - 2.0 = 3.0.$$

La forme sigmoïde de la courbe de dissociation d'un acide faible est donc une conséquence directe de la loi d'action de masse et la courbe sera la même pour tous les acides faibles avec toutefois cette différence : la position du point de demi-saturation (correspondant au pH égal au pK), particulière à chacun d'eux.

Voici une table de valeurs du pK pour une série d'acides faibles. Les pK sont énumérés dans l'ordre des forces d'acidité décroissantes

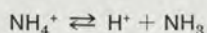
(c'est-à-dire des K de plus en plus petits, ou encore des pK de plus en plus grands) :

1		2		3	4 pK
H ₃ PO ₄	$\rightleftharpoons$	H ⁺	+	H ₂ PO ₄ ⁻	2.0
HAc	$\rightleftharpoons$	H ⁺	+	Ac ⁻	4.7
H ₂ CO ₃	$\rightleftharpoons$	H ⁺	+	HCO ₃ ⁻	6.1
H ₂ PO ₄ ⁻	$\rightleftharpoons$	H ⁺	+	HPO ₄ ⁼	6.6
NH ₄ ⁺	$\rightleftharpoons$	H ⁺	+	NH ₃	9.3
HCO ₃ ⁻	$\rightleftharpoons$	H ⁺	+	CO ₃ ⁼	9.8
HPO ₄ ⁼	$\rightleftharpoons$	H ⁺	+	PO ₄ [≡]	12.0

Dans la colonne 3, nous voyons l'énumération d'une série de bases, selon la terminologie de Brønsted, c'est-à-dire de substances qui ont une tendance à se combiner avec H⁺. La force de ces bases croît, dans le tableau, de haut en bas.

Le lecteur pourrait s'étonner de voir figurer dans la colonne 1, c'est-à-dire dans la colonne des acides faibles, des molécules neutres, des anions et des cations. Il faut garder à l'esprit que nous considérons ici ces différentes substances sous l'angle du pouvoir qu'elles ont d'abandonner des H⁺.

L'ammoniac NH₃, par exemple, peut fixer un proton pour former l'ion ammonium NH₄⁺. La dissociation de cet ion ressemble à celle de l'acide acétique ou de tout autre acide faible. Dans le cas particulier de NH₄⁺, il s'agit d'un acide très faible, comme l'enseigne la valeur de K



$$\frac{[\text{NH}_3][\text{H}^+]}{[\text{NH}_4^+]} = 5.5 \times 10^{-10} = K$$

$$\text{pK} = 10 - 0.7 = 9.3.$$

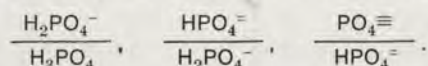
Une solution d'un acide faible et d'un sel de cet acide faible, contenant HA et A⁻ amortira au maximum l'influence d'une addition de H⁺ lorsque cette solution contiendra approximativement en proportions égales HA et A⁻. On dira que le pouvoir-tampon est maximum parce que lorsqu'on ajoute des ions H⁺, ces derniers ne restent pas en solution mais se combinent avec A⁻ pour former des molécules de HA. C'est ce que montre la figure 6-9 si on la considère, non de bas en haut, mais de haut en bas. A mi-hauteur de l'ordonnée, si au lieu d'ajouter plus de NaOH, on ajoute HCl, on ajoute des H⁺ et la courbe considérée dans son décours vers le bas montre que l'addition de H⁺ aura une influence beaucoup moins marquée sur le pH que dans le cas de l'eau pure.

Le pH d'un tampon dépend donc du rapport A⁻/HA. L'ion bicarbonate HCO₃⁻ est, dans la terminologie que nous avons adoptée, une base, car il se combine avec H⁺, et par surcroît il est une base relativement forte (pK = 6.1). Si, dans une solution d'acide carbonique et de bicarbonate, nous doublons la concentration en H₂CO₃ sans modifier la concentration de HCO₃⁻ nous doublons H⁺ (c'est-à-dire que nous abaissons de 0.3 la valeur du pH). Si, d'autre part, nous doublons la concentration de HCO₃⁻

sans modifier H_2CO_3 , nous diminuons de moitié la concentration de H^+ ou, en d'autres termes, nous augmentons le pH d'une valeur de 0.3.

Les systèmes $\frac{\text{acétate}}{\text{acide acétique}}$, $\frac{\text{bicarbonate}}{\text{acide carbonique}}$ sont des systèmes-tampons, c'est-à-dire que l'addition à ces mélanges d'une certaine quantité de H^+ , par exemple sous la forme de HCl , ne produit pas un changement aussi important du pH que si la même quantité de HCl avait été ajoutée à de l'eau pure.

D'autres mélanges-tampons sont, par exemple, les systèmes



Partons d'une solution 0.1 M de H_3PO_4 . Si nous la titrons par NaOH , nous mettons d'abord en évidence une première courbe sigmoïde dont le $\text{pK} = 2.0$ et qui correspond à la dissociation $\text{H}_3\text{PO}_4 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{H}^+$. Au pH 4.5 cette courbe sigmoïde atteint son sommet, mais si nous continuons le tirage, nous voyons s'en dessiner une deuxième, de $\text{pK} = 6.6$, correspondant à la dissociation $\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightleftharpoons \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}^+$. Au pH 9.0, cette courbe fait place à une région non tamponnée, dans laquelle l'addition de NaOH agit comme dans l'eau pure, mais on retrouve ensuite une troisième zone de tamponnement dont le $\text{pK} = 12.0$ et correspondant à la dissociation $\text{HPO}_4^{2-} \rightleftharpoons \text{PO}_4^{3-} + \text{H}^+$. Il va sans dire que si nous partons d'un mélange en quantités équivalentes de PO_4^{3-} et de HPO_4^{2-} au pH 12.0 et que si nous ajoutons du HCl , la courbe de dissociation se déroulera, en sens inverse de celui que nous avons décrit, en traversant les trois régions de dissociation, pour conduire, au pH 2.0 à un mélange en quantités équivalentes de H_3PO_4 et de H_2PO_4^- .

Qu'arrivera-t-il si la solution à laquelle nous ajoutons, par exemple HCl , et par conséquent H^+ , contient plusieurs accepteurs de H^+ , tels que HCO_3^- et HPO_4^{2-} . Les ions H^+ se distribuent selon leurs affinités relatives pour les accepteurs mais le résultat est tel que chacun des couples-tampons peut nous servir d'indicateur du pH. Dans un mélange contenant HCO_3^- , H_2CO_3 , HPO_4^{2-} et H_2PO_4^- , dont le pH = 7.1, on peut calculer que

$$7.1 = 6.1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

comme $\log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 1, \quad \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = 10.$

On calcule aussi que

$$7.1 = 6.8 + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

c'est-à-dire que $\log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = 0.3$ et que $\frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = 2.$

Nous pouvons dériver la valeur du pH aussi bien de la détermination du rapport $[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}_2\text{CO}_3]$ que de celle du rapport $[\text{HPO}_4^{2-}]/[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$, comme d'ailleurs tout aussi bien du rapport $\frac{\text{base}}{\text{acide faible}}$ d'un indicateur coloré dont la base a une couleur et l'acide une autre

couleur, comme par exemple le rouge de phénol dont la base est rouge et l'acide jaune, les différentes proportions relatives des deux formes étant traduites par une échelle de nuances différentes (Fig. 6-11).

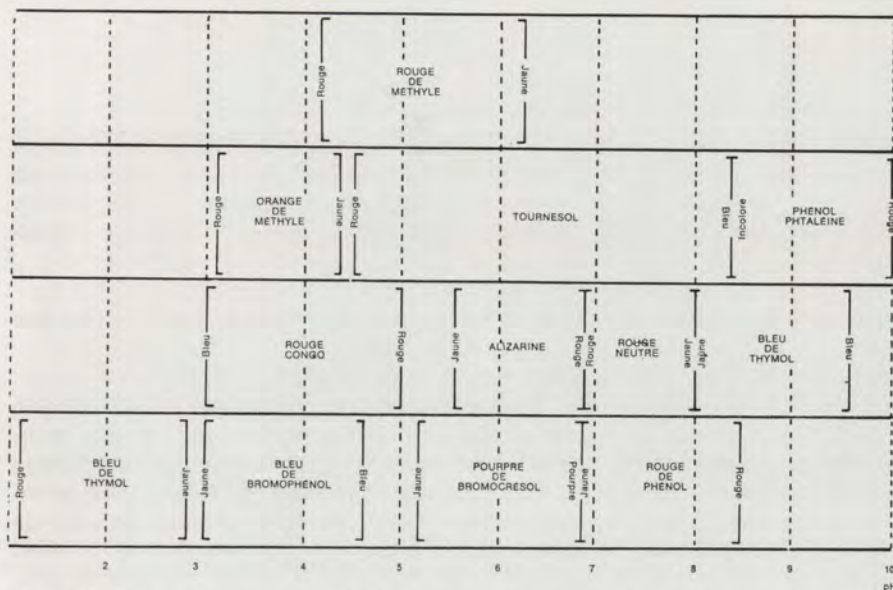
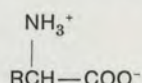


FIG. 6-11. Chaque indicateur (acide faible) a une couleur particulière à l'état non dissocié (HA) et une autre couleur à l'état complètement dissocié (A⁻). Le passage d'une couleur à l'autre s'opère donc dans une région de pH dont les valeurs correspondent à différentes proportions des deux formes HA et A⁻.

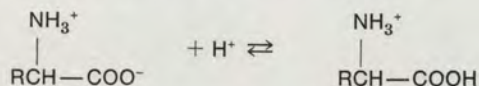
b) Courbe de titration d'un acide aminé

Un acide aminé neutre existe sous la forme d'un dipole (Zwitterion) :



Si à une solution neutre de l'acide aminé on ajoute par exemple de l'acide

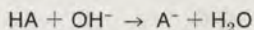
chlorhydrique, c'est-à-dire des H⁺, les groupements $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{—C—O}^- \end{array}$ fonctionneront comme des bases et se combineront avec des H⁺ pour former des $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{—C—OH} \end{array}$ jusqu'à ce que le tamponnement soit épuisé.



D'autre part, si à la solution ayant atteint ce point, nous ajoutons

du NaOH, c'est-à-dire des ions OH^- , ces derniers réagiront avec l'acide

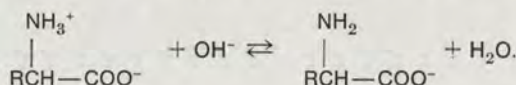
faible $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$ comme nous l'avons signalé



et des $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{O}^- \end{array}$ seront formés jusqu'à ce que tout le $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$ soit ainsi utilisé comme tampon. Dans l'une comme dans l'autre de ces opérations inverses les additions de H^+ ou OH^- auront un effet beaucoup moins considérable sur le pH que si on avait ajouté ces ions à l'eau pure. On voit que l'acide

faible représenté par le groupement $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$ d'un acide aminé constitue

avec son anion $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{C}-\text{O}^- \end{array}$ un couple-tampon, la dissociation de moitié, comme le maximum du pouvoir-tampon, étant repérés par le pK particulier du carboxyle en cause. D'autre part, si à la solution de l'acide aminé neutre nous ajoutons non plus du HCl, mais du NaOH, OH^- fonctionnant comme une base enlève à $-\text{NH}_3^+$ des ions H^+ pour former de l'eau, et laisse le groupement $-\text{NH}_2$. Dans ce cas (comme NH_4^+ p. 119), $-\text{NH}_3^+$ fonctionne comme un acide faible donnant des H^+ à la base OH^- ,



Pour illustrer ces données au moyen de la considération d'acides aminés

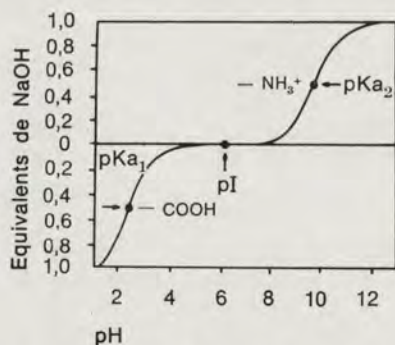
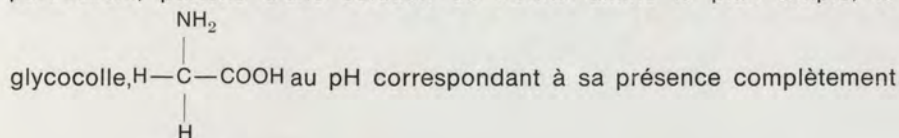
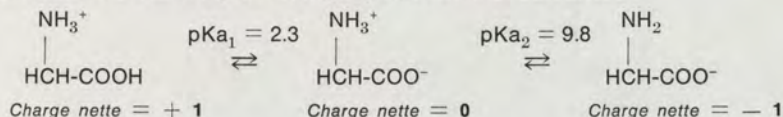


FIG. 6-12. Courbe de titrage du glycoacide ($\text{pK}_{\text{a}1} = 2.3$; $\text{pK}_{\text{a}2} = 9.8$). Si nous partons de l'extrémité inférieure de l'ordonnée et si nous ajoutons des OH^- (sous forme de NaOH par exemple), la base OH^- prend des H^+ au groupement dissociable dans cette région des pH ($-\text{HCOOH}$ devenant $-\text{HCOO}^-$) pour former de l'eau. Lorsque $-\text{HCOOH}$ est complètement dissocié en $-\text{HCOO}^-$, de nouvelles additions de OH^- modifieront fortement le pH, comme si on les ajoutait à l'eau pure. Dès qu'on arrive dans la région de dissociation de $-\text{NH}_3^+$, cet acide faible abandonne à son tour des H^+ qui, se combinant avec une partie des OH^- , atténuent la modification du pH résultant de leur addition, jusqu'à ce que les NH_3^+ soient complètement transformés en NH_2 .

particuliers, partons d'une solution de l'acide aminé le plus simple, le



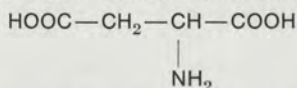
sous la forme de $\text{HCH}(\text{NH}_3^+)-\text{COOH}$. Les étapes du titrage lors de l'addition de OH^- (sous forme de NaOH par exemple) seront les suivantes :



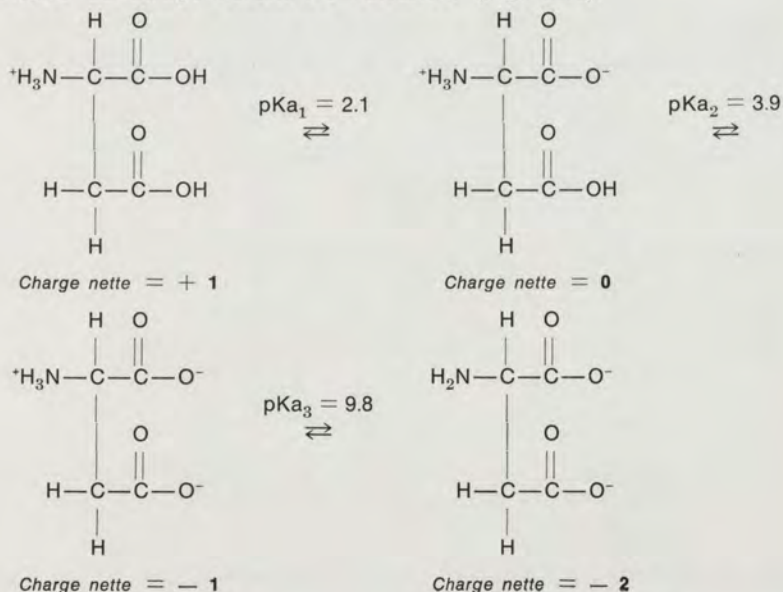
Le point isoélectrique (P.I.) est défini par le point correspondant à la charge 0. La forme symétrique de la courbe de titrage (deux courbes sigmoïdes successives correspondant à deux acides faibles de pK respectivement égaux à 2.3 et 9.8) du glycocolle montre que la forme isoélectrique de cet acide aminé est à son maximum de concentration à mi-chemin entre l'ionisation du carboxyle ($\text{pK} = 2.3$) et l'ionisation du groupement aminé ($\text{pK} = 9.8$). Le point isoélectrique correspond à la moyenne des pK :

$$\text{P. I.} = \frac{\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2}{2} = \frac{2.3 + 9.8}{2} = 6.05.$$

Considérons le cas d'un acide aminé dicarboxylique, l'acide aspartique



Les étapes du titrage seront les suivantes (Fig. 6-13).



Le maximum de concentration de l'espèce de charge nette égale à 0 (P. I.) est situé entre les pH correspondant aux pK_{a1} et pK_{a2}

$$P. I. = \frac{2.1 + 3.9}{2} = 3.0.$$

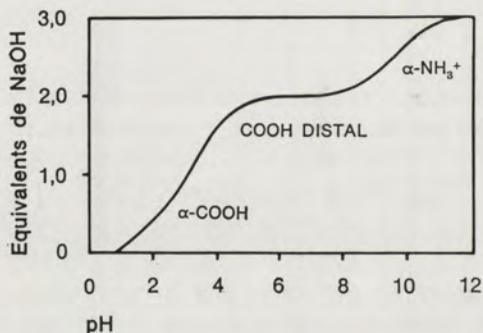
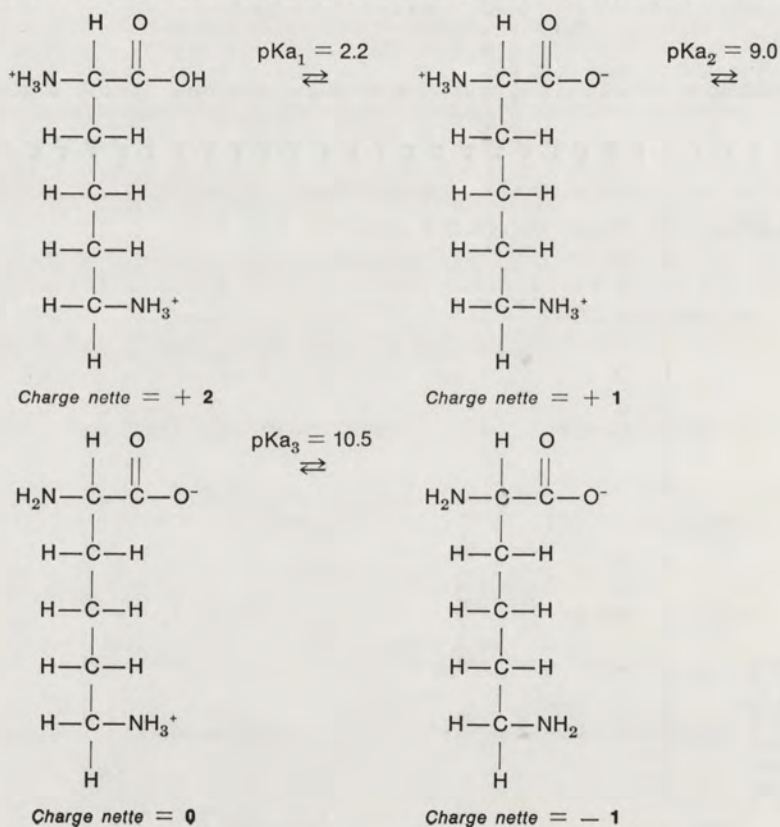


FIG. 6-13. Courbe de titrage de l'acide aspartique.

Quant à la lysine, acide diaminé monocarboxylique, ses espèces ioniques seront successivement, au cours du titrage (Fig. 6-14), les suivantes :



L'espèce isoélectrique est concentrée au maximum entre les pK 9,0 et 10,5 et le point isoélectrique correspond à la moyenne entre ces deux valeurs :

$$P. I. = \frac{9.0 + 10.5}{2} = 9.7.$$

Les groupements $-\text{COOH}$ et $-\text{NH}_2$ restant libres au bout des chaînes polypeptidiques des protéines et les groupements $-\text{COOH}$, $-\text{NH}$, $-\text{NH}_2$, situés au bout des chaînes latérales de ces dernières interviennent dans le tamponnement sous la forme d'une série de couples-tampons $-\text{COO}^- / -\text{COOH}$, $-\text{NH} / -\text{NH}_2^+$, $-\text{NH}_2 / -\text{NH}_3^+$, chacun caractérisé par un pK particulier.

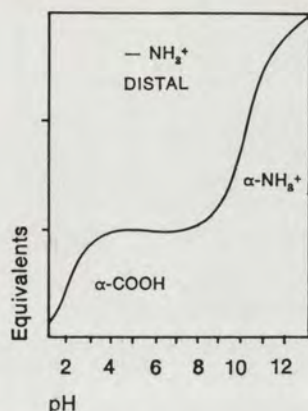


FIG. 6-14. Courbe de titrage de la lysine.

On conçoit que la courbe de titrage de la protéine globale sera très complexe. A plus forte raison la définition du pouvoir-tampon de l'ensemble des protéines du plasma.

Les protéines plasmatiques ne constituent pas le seul système-tampon du plasma qui contient en outre les systèmes $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ et $\text{HPO}_4^{2-} / \text{H}_2\text{PO}_4^-$. Comme nous l'avons vu (p. 120) dans une solution contenant plusieurs couples-tampons, chacun peut servir d'indicateur du pH. Dans le plasma sanguin, le système $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3$ est le plus utilisé pour la détermination du pH

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \quad (6-7)$$

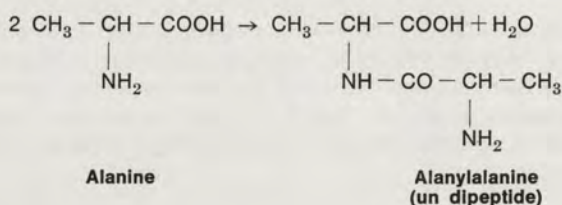
C'est l'équation d'Henderson-Hasselbalch.

B. LIAISON PEPTIDIQUE ET PEPTIDES

La liaison peptidique est une liaison amide résultant de la fusion, avec élimination d'eau, d'un groupe α -aminé et d'un groupe carboxyle. Les

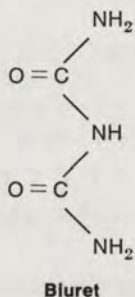
peptides sont le résultat de la réunion de deux ou plusieurs acides aminés par des liaisons peptidiques.

Exemple :



Lorsque des molécules contenant des liaisons peptidiques sont traitées par le sulfate de cuivre en milieu alcalin, il apparaît une coloration variant du rouge au violet foncé.

La réaction est dite « du biuret », parce qu'elle est aussi donnée par le biuret, dérivé de l'urée, et dont voici la formule :



1. Peptides de synthèse

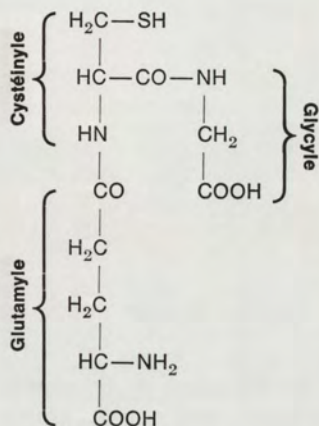
La synthèse des peptides présente un grand intérêt car, ainsi que nous le verrons, la synthèse d'un important polypeptide naturel a confirmé la structure qui lui était attribuée.

La méthode de synthèse la plus importante à l'heure actuelle est celle de Bergmann et Zervas, reposant sur le fait que les dérivés carbobenzoxy- ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}-$) des acides aminés peuvent être scindés par hydrogénolyse catalytique.

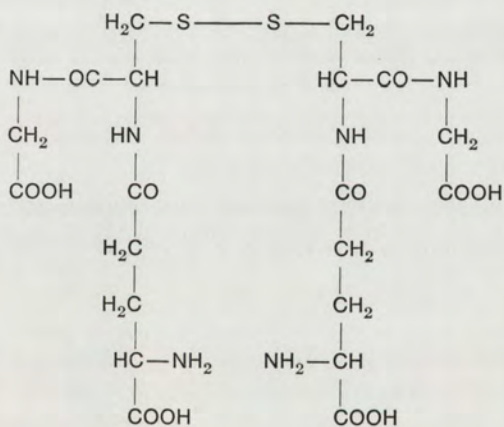
Parmi d'autres méthodes récentes citons la conversion des acides aminés en anhydrides d'acide carbonique qui, réagissant avec un groupe aminé forment une liaison peptidique, et l'utilisation d'anhydrides de carbobenzoxyaminoacides, qui réagissent facilement avec d'autres aminoacides.

2. Peptides naturels

a) Glutathion, ansérine, carnosine



Forme réduite du glutathion



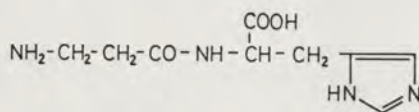
Forme oxydée du glutathion

On connaît depuis longtemps un tripeptide répandu dans les cellules animales et végétales, le glutathion.

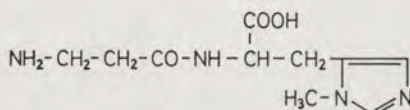
Le glutathion est un tripeptide de cystéine, d'acide glutamique et de glycocolle. Il existe sous deux formes, la forme réduite (ou forme thiol) et la forme oxydée, ou déshydrogénée (forme disulfure).

La carnosine ou β -alanyl-L-histidine est un autre peptide naturel, qu'on

a trouvé dans les muscles de vertébrés, où elle est accompagnée par son dérivé méthylé, l'ansérine.

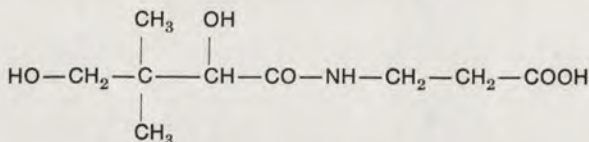


Carnosine



Ansérine

La β -alanine, qu'on trouve dans la carnosine et l'ansérine n'est pas un constituant des protéines, mais on la trouve encore dans d'autres substances naturelles telles que, par exemple, l'acide pantothénique



Acide pantothénique

qui est une dihydroxy-diméthylbutyrylalanine β .

L'intérêt porté aux peptides naturels s'est encore accru au cours des dernières années, du fait que de nombreux antibiotiques sont des polypeptides.

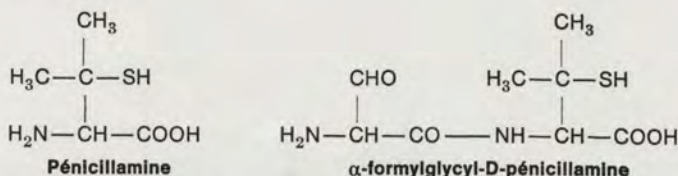
b) Antibiotiques

Certains antibiotiques sont des peptides produits par des microorganismes et possédant des propriétés antibactériennes à l'égard d'autres organismes.

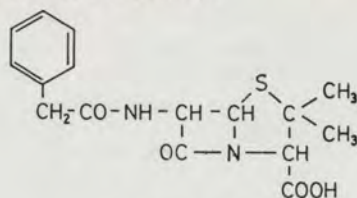
Les gramicidines produites par *Bacillus brevis* sont, par exemple, des cyclopeptides de poids moléculaire voisin de 400, et contenant surtout du L-tryptophane et de la D-leucine à côté de quantités moindres de D-valine, L-valine, L-alanine, glycolle et éthanolamine. L'un des traits de la chimie des peptides naturels antibiotiques est le fait qu'on relève dans leur composition la présence d'acides aminés qui ne sont jamais présents dans les protéines, ou de stéréoisomères D des formes naturelles L des acides aminés protéiques.

Les tyrocidines sont des peptides antibiotiques produits en même temps que les gramicidines. Parmi leurs acides aminés, on trouve la L-ornithine et la D-phénylalanine. Les pénicillines, produites par les mois-

sures du genre *Penicillium* sont des dérivés d'un dipeptide, l' α -formylglycyl-D-pénicillamine



Dans la pénicilline G, par exemple, l' α -formylglycyl-D-pénicillamine est cyclisée en anneau thiazolidine par réaction de la fonction aldéhyde (formyle) avec le thiol et le NH de l'amide.



Pénicilline G

Dans d'autres pénicillines, le noyau benzène de la pénicilline G est remplacé par d'autres groupes.

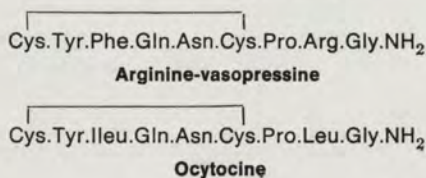
c) Phalloïdine

Le poison du champignon le plus couramment responsable des empoisonnements, *Amanita phalloïdes*, est un peptide, la phalloïdine, fournissant à l'hydrolyse, non seulement de la cystine et de l'alanine, mais encore l'allohydroxy-L-proline, diastéréoisomère de la forme de la proline qui est présente dans les protéines.

d) Hormones peptidiques

Fréquemment, la structure peptidique est utilisée pour la transmission de messages chimiques par l'intermédiaire d'hormones. Un exemple est fourni par deux hormones de l'hypophyse postérieure des vertébrés, l'ocytocine et la vasopressine. Ces deux polypeptides ont été extraits de la glande où ils sont associés à une protéine, la neurophysine, dont le poids moléculaire est voisin de 30 000. Les hormones sont synthétisées dans les noyaux supraoptiques et paraventriculaires et migrent en association avec la neurophysine jusqu'au lobe postérieur de l'hypophyse, le long des fibres nerveuses.

L'ocytocine et la vasopressine sont des octapeptides dont la structure chez la plupart des mammifères est la suivante :



La structure de la vasopressine peut varier selon l'espèce qui la produit. La variation porte généralement sur l'acide aminé en position 8, parfois également sur celui en position 3. Le nom de la vasopressine est alors défini par la nature de l'acide aminé en position 8.

C. PROTÉINES

Les protéines sont des macromolécules dont l'hydrolyse fournit un mélange d'acides aminés. Quelle que soit leur origine, elles sont toujours construites au moyen d'une série des 20 acides α -aminés cités plus haut de configuration L-, réunis principalement par des liaisons peptidiques. La grande diversité des propriétés des protéines dépend du nombre de résidus de L-acides aminés, formant la chaîne peptidique, de la nature de ces acides aminés, de l'ordre dans lequel ils sont assemblés, des ramifications de leurs chaînes et de la configuration résultant des plis qui, dans les chaînes ou feuilletts peptidiques, permettent la rotation libre autour de la charnière de certaines liaisons.

1. Classification

On répartit les protéines en deux catégories principales : les protéines fibreuses et les protéines globulaires ⁽¹⁾. La plupart des protéines fibreuses sont insolubles dans les solvants aqueux. Bien que ne cristallisant pas, elles présentent cependant des zones cristallines. Elle sont formées de longues molécules plus ou moins rectilignes et plus ou moins parallèles à l'axe de la fibre. A cette catégorie appartiennent les macromolécules protéiques de structure. Leurs poids moléculaires sont à la fois très élevés et peu définissables puisqu'elles sont en général insolubles.

Par contre, les poids moléculaires des macromolécules protéiques globulaires sont définis (entre 10 000 et plusieurs millions) et leurs molécules sont plus ou moins sphériques. Elles sont le plus souvent cristallisables et elles sont solubles dans les solvants aqueux (eau ou solutions aqueuses de sels, d'acides, de bases ou d'alcool suivant les cas). Elles sont dénaturables. Les molécules constituant les substances actives telles que les enzymes, hormones, etc., appartiennent à cette catégorie.

Les protéines fibreuses ont beaucoup de similitude avec les polypeptides de synthèse. Ces derniers sont peu solubles, fournissent des diagrammes d'absorption infrarouge et de diffraction des rayons X très semblables à ceux des protéines fibreuses. Mais les protéines globulaires ne ressemblent pas aux polypeptides de synthèse. Cependant, la dénaturation complète les transforme en substances ressemblant aux polypeptides.

a) Protéines fibreuses

Les organismes utilisent souvent comme matériel de soutien des protéines fibreuses. C'est surtout le cas chez les animaux, les végétaux assurant les mêmes fonctions de préférence au moyen de macromolécules

⁽¹⁾ On les appelle parfois aussi corpusculaires. Globulaire signifiant en forme de globe, tandis que corpusculaire signifie relatif aux corpuscules, la première appellation doit être préférée à la seconde.

de polysaccharides. Parmi les protéines fibreuses sont le collagène du tissu conjonctif, la myosine des muscles, la fibrine du caillot sanguin, la kératine et l'épidermine de la peau des vertébrés, les gorgonines des coraux, les conchiolines des coquilles de mollusques, les sclérotines des téguments d'arthropodes, etc.

Les protéines fibreuses, outre la détermination de leurs acides aminés, ont surtout été étudiées au moyen de la méthode de diffraction des rayons X. Astbury, partant des données fournies par cette méthode, classe les protéines fibreuses en deux catégories : le groupe k-m-e-f (kératine-myosine-épidermine-fibrine) et le groupe collagène.

Les spectres de diffraction des rayons X montrent que les fibres étirées de kératine (β -kératine) sont formées par la répétition d'unités longues de 3.3 Å, chiffre voisin de la longueur calculée (3.6 Å) d'une distance —NHCHCO—. Les chaînes latérales se projettent alternativement d'un côté ou de l'autre par rapport à la chaîne peptidique. Les chaînes peptidiques sont séparées dans la β -kératine par une distance de 9.7 Å environ. Cette distance est voisine de celle qu'on peut calculer pour la plus longue chaîne latérale d'un acide aminé tel que l'arginine (8.4 Å).

Quand la kératine n'est pas étirée (α -kératine) elle présente un autre diagramme de rayons X. Les protéines fibreuses du groupe k-m-e-f ont un diagramme analogue à celui de l' α -kératine ou de la β -kératine, suivant les cas, tandis que les protéines fibreuses du groupe collagène présentent des diagrammes d'un autre type.

La vue la plus généralement (mais non unanimement) acceptée est que la forme β du groupe k-m-e-f correspond à une structure en zigzag (Fig. 6-15 et 6-16), tandis que la forme α du groupe k-m-e-f et la forme collagène présentent un enroulement en hélice, l'axe de cet enroulement correspondant à l'axe de la fibre. La structure en hélice la plus généralement acceptée est celle qui présente 3.69 résidus d'acides aminés par tour (Fig. 6-17). Dans certaines protéines fibreuses, les chaînes polypeptidiques de structure en hélice sont disposées parallèlement les unes aux autres. Dans d'autres cas, elles sont elles-mêmes associées en câbles dans lesquels les chaînes polypeptidiques sont tordues ensemble comme les fils d'une corde (Fig. 6-18).

b) Protéines globulaires

i) Classification

Bien que cette classification n'ait qu'une valeur très relative, on a l'habitude de classer empiriquement comme il suit, les protéines globulaires :

Protamines

Solubles dans l'eau : donnent une solution alcaline. Protéines basiques de poids moléculaire faible. Riches en arginine, elles sont dépourvues des acides aminés aromatiques tels que la tyrosine et le tryptophane. Leur basicité résulte de la prédominance d'un ou plusieurs des acides aminés arginine, histidine, lysine. Les protéines de cette catégorie sont complexes et formées d'assemblages de chaînes polypeptidiques de structures variables. Incoagulables par la chaleur, elles donnent la réaction du

biuret sans addition d'alcali. Les réactions d'Adamkiewicz (tryptophane) et celle de Millon (tyrosine) sont négatives.

Exemples : certaines protéines de la laitance des poissons : salmine (du saumon), clupéine (du hareng), sturine (de l'esturgeon).

Histones

Moins basiques que les protamines, et contenant une plus faible proportion (15 %) d'acides diamminés. Elles ont des poids moléculaires

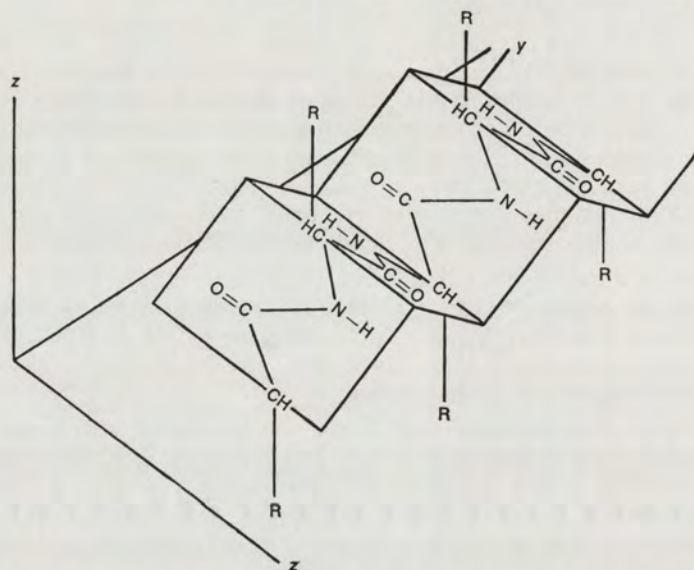


FIG. 6-15. Ruban polypeptidique en zigzag (forme β) (d'après Springall).

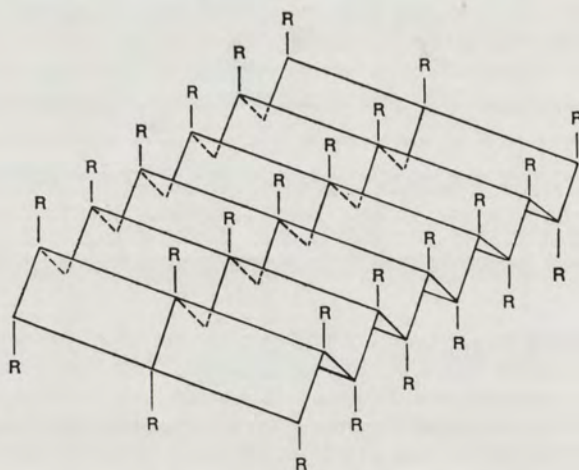


FIG. 6-16. Feuille de rubans polypeptidiques en zigzag (forme β) (d'après Springall).

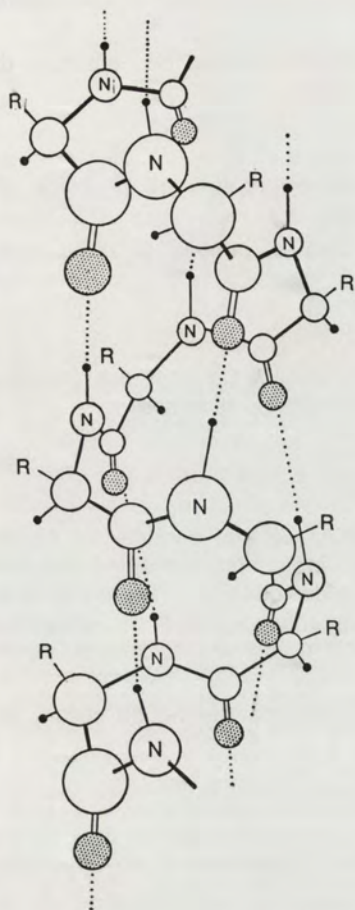
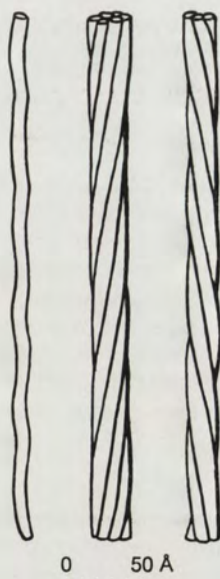


FIG. 6-17. Portion d'enroulement en hélice α . N = atome d'azote ; R = chaîne latérale ; points noirs = atomes d'hydrogène ; cercles clairs = atomes de carbone ; cercles pointillés = atomes d'oxygène ; lignes pointillées = liaisons hydrogène (d'après Pauling, Corey, Branson).

FIG. 6-18. Formes sous lesquelles peuvent être tordues ensemble les chaînes polypeptidiques à enroulement en hélice α . Câble AB₈ (six chaînes enroulées autour d'une septième : c'est la structure de la kératine du cheveu ou de l'ongle) ou corde D₃ (trois chaînes enroulées (d'après Pauling et Corey).



plus élevés que ceux des protamines. Solubles dans l'eau et coagulables par la chaleur.

Exemples : certaines protéines des globules rouges des oiseaux, des leucocytes du thymus, et en général des noyaux cellulaires.

Gliadines ou prolamines

Solubles dans l'alcool à 70-80°. Riches en proline et en acide glutamique. Pas de lysine et peu de glycofolle.

Exemples : certaines protéines des céréales, comme la zéine (maïs) et la gliadine du blé.

Glutélines

Solubles dans les acides et les alcalis dilués. Ce sont des protéines complexes, constituées de chaînes d'architectures diverses.

Exemple : la gluténine du blé.

Albumines

Solubles dans l'eau et dans les solutions salines diluées. La chaleur les coagule en présence de sels neutres. Insolubles dans les solutions saturées de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Notablement solubles dans les solutions demi-saturées du même sel. Les albumines contiennent une faible proportion d'acides diamminés (10 %) et une proportion relativement forte de soufre. Contiennent peu ou pas de glycofolle.

Exemples : ovalbumine du blanc d'œuf, sérualbumine du sérum sanguin, lactalbumine du lait.

Globulines

Insolubles dans l'eau, solubles dans les solutions salines diluées. Peu solubles dans $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à demi-saturation. Contiennent du glycofolle.

Exemples : sérumglobuline du sérum sanguin, lactoglobuline du lait, ovoglobuline du blanc d'œuf.

ii) Constitution

Une étude très approfondie de nombreuses protéines globulaires a été poursuivie au cours des dernières années au moyen des techniques d'étude de la pression osmotique, de la diffusion, de la viscosité, de la sédimentation, de l'électrophorèse, de la diffraction de la lumière, de la biréfringence d'écoulement, des propriétés diélectriques, de l'absorption infrarouge, de la diffraction des rayons X et de la microscopie électronique. Cette imposante mobilisation de techniques a enseigné un nombre immense de détails, dont la systématisation reste impossible. Quelques vues générales peuvent cependant sortir de cette enquête étendue.

Poids moléculaire

Les poids moléculaires des protéines globulaires sont situés entre 10 000 et plusieurs millions. Plusieurs tentatives de systématisation de ces poids moléculaires (Svedberg ; Bergmann et Neumann) n'ont pas supporté l'épreuve du temps.

Forme

Elle est parfois visible au microscope électronique. C'est le cas pour l'hémocyanine. Dans d'autres cas, l'examen des constantes physiques permet de mesurer approximativement les dimensions de la molécule protéique. C'est ainsi que l'insuline de bœuf ($M \times 10^{-3} = 12$) est un prisme droit long de 44 Å, large de 26 Å et épais de 20 Å, tandis que le virus de la mosaïque du tabac ($M \times 10^{-3} = 40\,000$) est un bâton long de 2980 Å et large et épais de 150 Å.

Structure

L'ensemble des informations fait admettre que les protéines globulaires ont une structure similaire à la forme α des protéines fibreuses du groupe k-m-e-f, c'est-à-dire celle de l'enroulement hélicoïdal à 3,6 résidus par tour de spire, c'est-à-dire à 18 résidus pour 5 tours. Cela ne donne cependant pas l'explication de la nature compacte des protéines globulaires. Il est admis que les rubans polypeptidiques y sont pelotés en globules compacts, serrés par des liaisons latérales entre rubans.

La flexibilité que suppose l'état pelotonné peut être, comme Neurath l'a suggéré, le fait de la présence d'un acide aminé tel que le glycofolle, dépourvu de chaînes latérales qui pourraient empêcher le plissage à la charnière. Ou encore, selon l'opinion de Pauling, la présence de la proline, lieu de flexibilité puisque, ne portant pas de NH quand elle est dans une structure peptidique, elle ne contracte pas de liaison hydrogène $N-H \cdots O$, et garde une grande liberté de flexion.

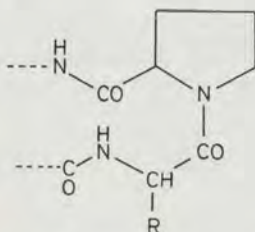


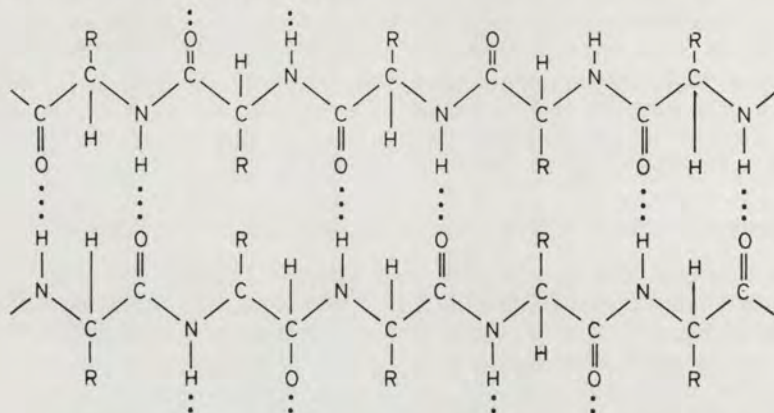
Diagramme montrant la possibilité de changement de direction d'une chaîne peptidique au niveau d'un résidu de proline.

Dénaturation

Les protéines globulaires peuvent subir la dénaturation, processus souvent irréversible, assez mal défini, résultant de l'action des agents les plus divers (urée, alcool, détergents, ultrasons, etc.) et traduit par une diminution de solubilité, un accroissement de viscosité, l'apparition de groupes $-SH$ libres, etc. La dénaturation est caractérisée par un coefficient de température très élevé, ce qui implique un ordre de degré élevé dans la macromolécule native.

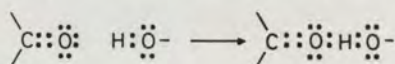
D'autre part, l'enthalpie ($-\Delta H$, chaleur libérée à pression constante) est faible, indice de peu de modifications dans le domaine des covalences. La dénaturation est donc vraisemblablement une sorte d'affaissement d'un

arrangement très ordonné et spécifique. Le résultat est un mélange faiblement ordonné de polypeptides.

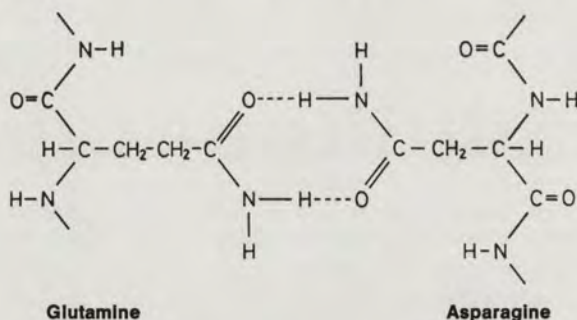


L'ensemble des observations conduit donc à considérer une protéine globulaire comme une architecture tridimensionnelle hautement ordonnée de feuillets polypeptidiques de configuration α -k-m-e-f (vraisemblablement enroulement 3.6) pelotonnés en masses globuleuses maintenues par des liaisons de chaînes latérales et par des liaisons hydrogène relativement faibles. Au niveau d'un groupement polaire ayant un atome d'hydrogène superficiel, il existe une attraction pour les charges négatives des molécules voisines. Dans deux chaînes polypeptidiques voisines, un hydrogène peptidique peut constituer un pont avec une paire d'électrons portée par un oxygène d'une chaîne polypeptidique voisine.

C'est là une expression de la tendance qu'ont les atomes d'hydrogène à partager les électrons d'un atome d'oxygène.



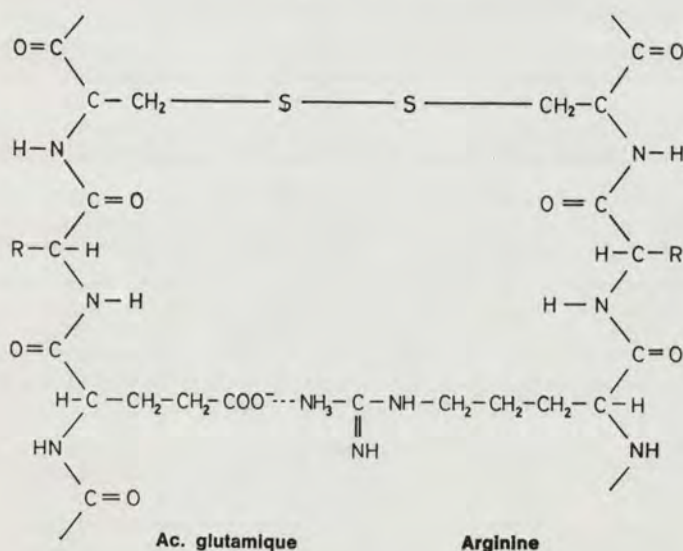
Il peut aussi s'établir des liaisons hydrogène entre atomes d'azote et atomes d'oxygène, entre —OH de la tyrosine et —COOH libres, et aussi entre amides



D'autres ponts entre polypeptides sont de nature disulfure (covalente), de nature saline (non covalente, électrostatique), etc. (voir p. 40).

Nous avons admis que la forme des protéines globulaires dépend de liaisons secondaires relativement faibles. Lorsqu'on élève la température, l'agitation thermique des molécules peut être suffisante pour rompre ces liaisons secondaires. Les sels minéraux et l'urée, en polarisant des molécules d'eau autour de leurs ions ou de leurs molécules, déshydratent la macromolécule globulaire, ce qui modifie le champ électrique dans cette dernière, et entraîne des changements de forme. Les acides et les bases, en modifiant l'ionisation des groupes basiques et des groupes acides, modifient aussi le champ électrique et la forme. Les métaux lourds, qui forment avec certaines fonctions des complexes de coordination, agissent dans le même sens. Dans ces divers cas, il y a dénaturation et la modification de forme s'accompagne généralement d'une tendance au passage à l'état fibreux, en même temps que des fonctions qui se trouvaient cachées à l'intérieur du globule se trouvent révélées. La révélation de ces fonctions joue certainement un rôle dans la tendance à la formation d'agrégats, que montrent les protéines globulaires dénaturées. La formation de ces agrégats, et la diminution de solubilité qui l'accompagne, sont facilitées au point isoélectrique, où rien ne s'oppose à la confluence des molécules.

La dénaturation peut être irréversible. C'est le cas lors de modifications importantes de la structure, altérant la géométrie du champ électrique de la macromolécule globulaire.



La dénaturation irréversible peut s'accompagner d'une polymérisation et d'une diminution de solubilité. L'apparition d'un précipité est appelée floculation. Si le précipité est pratiquement insoluble, on l'appelle coagulum.

La dénaturation peut être réversible, lorsque les modifications de structure sont faibles. Si on la replace dans les conditions initiales,

le champ électrique rétablit la forme première de la macromolécule globulaire.

c) Protéines conjuguées

Les protéines conjuguées sont celles qui sont associées à des substances autres que des acides aminés. La portion non protéique de la molécule, souvent qualifiée de groupement prosthétique (voir p. 158), est de nature lipidique comme dans les lipoprotéines ou glucidique, comme dans les glucoprotéines. Dans le premier cas, il s'agit de l'association d'une protéine et de lécithine, de cholestérol, de céphaline, etc. (Si la teneur en lipides est telle que le complexe est insoluble dans l'eau, on parlera de protéolipides.) Dans le second cas il s'agit de protéines contenant moins de 4 % de glucides (mesurés sous forme d'hexosamine) comme dans l'albumine de l'œuf de poule, certaines albumines et globulines sériques. Si la teneur en glucides dépasse 4 % on a affaire aux mucoprotéines.

Les nucléoprotéines résultent de la combinaison de protéines et d'acides nucléiques (Chap. 16). Enfin les protéines conjuguées comprennent également les hémoprotéines, les flavoprotéines, les métalloprotéines, les phosphoprotéines, etc.

2. Caractères généraux des solutions de protéines

a) Réactions de coloration

Les solutions de protéines donnent certaines réactions de coloration dues à la présence, dans leurs molécules, de certains acides aminés.

1) *Réaction xanthoprotéique.* — Si on chauffe une protéine après avoir ajouté à sa solution 20 % environ d'acide nitrique, il apparaît un précipité blanc qui devient jaune. Si on refroidit et alcalinise, cette coloration vire à l'orangé.

Le précipité blanc résultant de l'addition d'acide nitrique est un précipité de protéines (action des acides forts). La caractéristique de la réaction est l'apparition de la couleur jaune lors de l'ébullition en présence d'acide nitrique, et l'intensification de cette coloration en milieu alcalin. La réaction dépend de la présence d'acides aminés benzéniques, comme la tyrosine, le tryptophane, la phénylalanine. La coloration est due à la formation d'un dérivé benzénique nitré.

2) *Réaction de Millon.* — Si on ajoute à une solution de protéine quelques gouttes de réactif de Millon, il se forme un précipité blanc. Si on chauffe le tube avec précaution, le précipité devient rouge brique ou bien il se dissout en donnant une solution rouge. Le réactif est préparé en dissolvant du mercure dans deux fois son poids d'acide nitrique concentré. On ajoute deux volumes d'eau et on filtre. Le réactif contient du nitrate mercurieux $(\text{NO}_3)_2 \text{Hg}_2$, du nitrate mercurique, $(\text{NO}_3)_2 \text{Hg}$, de l'acide nitrique, HNO_3 et de l'acide nitreux, HNO_2 .

Le précipité blanc qui résulte de l'addition du réactif est un précipité de protéines (précipitation par les sels de métaux lourds).

La caractéristique de la réaction est l'apparition de la couleur rouge lorsqu'on chauffe. C'est une réaction des substances contenant un groupement OH attaché à un noyau benzénique. Elle est due, dans le cas des protéines, à la présence de tyrosine.

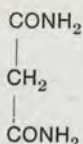
3) *Réaction du biuret.* — Si à une solution de protéine alcalinisée par de la soude, on ajoute une goutte de solution diluée de sulfate de cuivre, il apparaît une coloration variant du rouge au violet plus ou moins foncé.

La couleur rouge est due à la présence de liaisons peptidiques (au moins deux, portées par deux carbones différents). Cette couleur rouge est modifiée plus ou moins selon les conditions, par une coloration bleue due à la formation, au niveau des groupes aminés libres, d'aminocomplexes cuivriques bleus. Lorsque les deux espèces de composés cuivriques sont réalisés, la coloration est violette.

La réaction est également donnée par le biuret (d'où son nom) de même que par l'oxamide :

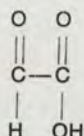


et par la malonamide :



Il est important de ne pas ajouter trop de sulfate cuivrique. La couleur bleue ainsi produite empêcherait d'apprécier la coloration violette.

4) *Réaction d'Adamkiewicz.* — En présence d'acide acétique (contenant de l'acide glyoxylique comme impureté) et d'acide sulfurique à concentration convenable, les protéines contenant du tryptophane donnent une coloration violette. L'acide acétique n'intervient pas dans la réaction. C'est l'acide glyoxylique que contient l'acide acétique (impureté) qui intervient. L'acide glyoxylique



réagit avec le tryptophane pour donner des produits colorés.

La réaction est encore appelée réaction glyoxylique ou, lorsque l'acide acétique est remplacé par un réactif contenant de l'acide oxalique et de l'acide glyoxylique, réaction de Hopkins et Cole. La réaction n'est positive qu'avec les protéines contenant du tryptophane. La gélatine, la globine, la fibroïne de la soie, l'élastine, qui ne contiennent pas cet acide aminé, ne donnent pas la réaction.

5) *Réaction du soufre.* — Si on fait bouillir une solution alcaline de protéine, puis si on ajoute une ou deux gouttes de solution d'acétate de plomb, la solution devient d'un noir dense et on voit s'y déposer un précipité noir.

Cette réaction est la réaction du soufre, une des réactions de coloration des protéines. Son caractère est l'apparition de la couleur noire. Lors de l'ébullition en présence de soude, du soufre est libéré (provenant en grande partie de la cystine et de la cystéine), sous forme de sulfure de sodium Na_2S qui, avec l'acétate de plomb, donne un précipité noir de sulfure de plomb, PbS .

Le caséinogène, protéine du lait contenant très peu de soufre, ne donne pas la réaction, pas plus que les peptones.

b) Réactions de précipitation

Les protéines sont précipitées par les sels des métaux lourds (acétate de Pb, chlorure mercurique, nitrate mercurique, chlorure ferrique, etc.), surtout en milieu alcalin.

Elles sont aussi précipitées, surtout en milieu acide, par les réactifs des alcaloïdes (acide phosphomolybdique, acide phosphotungstique, acide picrique, acide sulfosalicylique, tannin). Les acides forts (H_2SO_4 , HNO_3 , acide trichloracétique, etc.) les précipitent aussi de leurs solutions.

Les albumines et les globulines, à la température de -5° , sont précipitées par l'alcool : ce précipité se redissout dans l'eau ou les solutions salines diluées, ce qui démontre que la protéine a été précipitée sans être irréversiblement dénaturée. A la température du laboratoire, l'alcool précipite les albumines et les globulines, mais sous des formes modifiées.

3. Nature et situation des acides aminés constituant les protéines

a) Teneur en azote et en soufre

Une des tâches actuelles de la biochimie est la détermination de l'ordre dans lequel sont assemblés les acides aminés dans les chaînes polypeptidiques d'une protéine, et la définition de l'architecture de cette protéine. On doit d'abord connaître l'azote protéique total (autour de 16 %) et le soufre total (autour de 2 %), ce qui permet, après la détermination des divers acides aminés, de vérifier si leur total rend compte de la composition totale de la protéine.

b) Titration

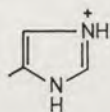
Les groupes réactifs de la protéine native peuvent être déterminés par titration, au moyen d'acides et d'alcalis dilués quand il s'agit des groupes acides ou basiques, et au moyen de nitrate d'argent, d'iode, etc., quand il s'agit des groupes thiol.

La titration potentiométrique d'une protéine en solution aqueuse au moyen d'un acide ou d'un alcali dilué s'opère, comme dans le cas des acides aminés (voir p. 121), par la mesure du changement de pH résultant de l'addition, à la protéine isoionique, d'une quantité connue de l'acide ou de la base. L'état isoionique existe quand le nombre de protons attachés aux groupements basiques (ex. : $-NH_2 + H^+ \rightarrow -NH_3^+$) est égal au nombre de protons enlevés aux groupements acides (ex. : $-COOH \rightarrow -COO^- + H^+$). S'il n'y a pas d'ions autres que des protons fixés à la protéine, l'état isoionique se superpose à l'état isoélectrique, défini par la charge 0. Les résultats de la titration s'énoncent en termes de pH/acide ajouté et pH/base ajoutée. La figure 6-19 montre une courbe de dissociation de protéine. Une telle courbe s'interprète selon le même mode de raisonnement que celui appliqué précédemment à la titration des

acides aminés. Toutefois, la situation est beaucoup plus complexe. Les groupements ionisables des protéines sont nombreux :

α -COOH terminal libre des chaînes polypeptidiques

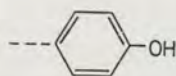
β -COOH ou γ -COOH de l'acide aspartique ou de l'acide glutamique



de l'histidine

α -NH₃⁺ terminal libre des chaînes polypeptidiques

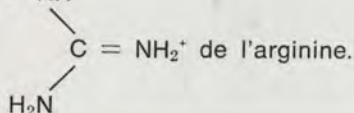
ϵ -NH₃⁺ de la lysine



de la tyrosine

---SH de la cystéine

---NH



= NH₂⁺ de l'arginine.

Quand le pH est très acide, voisin de 1.0 par exemple, tous ces groupements sont à l'état non dissocié. Au pH 14.0, ils sont tous complètement dissociés. Au cours du passage progressif du pH 1.0 au pH 14.0, chaque groupement ionisable se dissociera en un domaine particulier des valeurs du pH, correspondant à son pK particulier. La figure 6-20 repère ces divers domaines. Dans la figure 6-19, trois régions correspondant à une forte modification du nombre de protons combinés à la protéine, au cours d'une faible variation de pH, apparaissent et sont marqués par les lettres a, b et c. Se reportant à la figure 6-20, on peut reconnaître que la région a correspond à la dissociation des carboxyles libres terminaux et des carboxyles des acides aspartique et glutamique, tandis que la région b correspond à celle des groupes dissociables de l'histidine et des groupements α -aminés terminaux. La région c correspond à la dissociation des groupements portés par la lysine, la tyrosine, la cystéine et l'arginine. Pour serrer la question de plus près et dissocier les domaines complexes de b et c, on peut mettre hors jeu l'un des groupes, par exemple en faisant agir le formol sur les groupements aminés libres, en accomplissant une désamination enzymatique, etc. L'analyse complète, et parfois très ardue, de la courbe de titration d'une protéine nous renseigne sur la teneur de cette protéine en arginine, en histidine et en lysine, et elle nous donne le nombre total des groupements α -aminés libres et des carboxyles libres. Connaissant la teneur en amides primaires, par opposition aux peptides, qui sont des amides secondaires (par la teneur en ammoniacque du produit d'hydrolyse de la protéine : voir plus loin), et la teneur en acide aspartique et en acide

glutamique, on peut calculer la teneur en carboxyles non engagés dans des liaisons peptidiques. Si on connaît la teneur en carboxyles libres et en groupements aminés libres, on peut avoir une idée du nombre de chaînes polypeptidiques associées dans la macromolécule protéique.

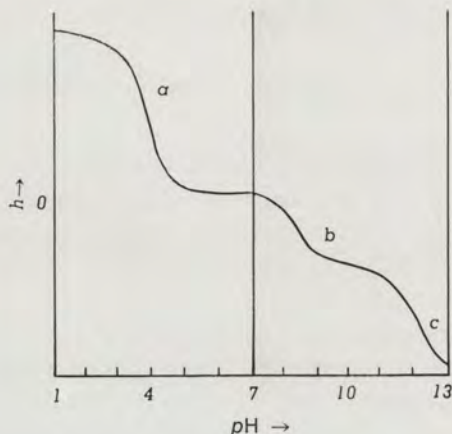


FIG. 6-19. Courbe de titration d'une protéine. En abscisses, les valeurs du pH. En ordonnées, le nombre h de protons qui sont ajoutés ou retranchés à partir de l'état isoionique pour obtenir les valeurs du pH en solution aqueuse. On obtient les valeurs de h en retranchant du nombre d'équivalents d'acide nécessaires pour amener le pH à une valeur déterminée, le nombre d'équivalents nécessaires pour amener le solvant à ce même pH (d'après Springall).

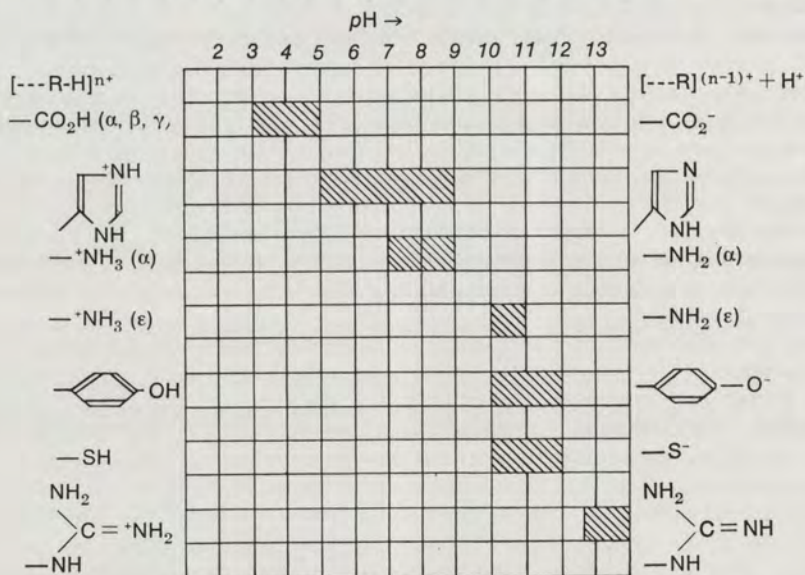


FIG. 6-20. Constantes de dissociation des différents groupes $---R-H$. La région hachurée indique la région des valeurs de pH dans laquelle la dissociation $[---R-H]^{n+} \rightarrow [---R]^{(n-1)+} + H^+$ s'accomplit quand augmente la valeur du pH.

c) *Composition de l'hydrolysat*

La titration accomplie sur la protéine native, on détermine sa composition en acides aminés. L'hydrolyse fournit un mélange d'acides aminés et d'ammoniaque. Cette dernière provient des groupements amidés de la glutamine et de l'asparagine, mais elle peut aussi être un artefact résultant de la décomposition de certains acides aminés au cours de l'hydrolyse. Etant donné que le poids moléculaire moyen des acides aminés correspond à 110, l'hydrolyse complète d'une protéine dont le poids moléculaire est égal à 36 000, produira environ 300 molécules d'acides aminés appartenant à 20 espèces différentes. Le problème analytique que pose cet hydrolysats est évidemment formidable. Sa solution est un succès notable. Les méthodes utilisées sont nombreuses : précipitation spécifique de tel ou tel groupe d'acides aminés (par exemple par l'acide phosphotungstique pour la cystine, l'arginine, l'histidine et la lysine), précipitation de tel ou tel acide aminé (par exemple celle de la proline par le rhodanilate d'ammonium) ; méthodes colorimétriques ; méthode de dilution des isotopes ; méthodes enzymatiques (par exemple dosage du CO_2 libéré par une décarboxylase spécifique) ; méthodes microbiologiques (dépendant du fait que, pour une souche déterminée, un acide aminé est indispensable à la croissance, et que cette dernière, mesurée par exemple par la production d'acide chez les bactéries lactiques, est proportionnelle à la concentration de l'acide aminé), méthodes chromatographiques, etc.

Le tableau 6-2 montre la composition en acides aminés d'une série de protéines dont on a fait l'analyse complète ou presque complète. Comme on le voit, un tel tableau ne permet aucune conclusion comparative qui ait de l'intérêt. Aussi l'attention se porte-t-elle principalement sur la séquence des acides aminés dans les chaînes polypeptidiques des protéines.

d) *Détermination des séquences d'acides aminés*

Quand on peut établir, pour une protéine définie, un relevé de la teneur en acides aminés de l'espèce qu'on trouve dans le tableau 6-2, on peut calculer le poids moléculaire minimum, dont le poids moléculaire réel sera un multiple. Si on prend par exemple le cas d'un acide aminé qui ne constitue pas une portion quantitativement très importante de la protéine, on doit admettre que si l'acide aminé n'est présent que sous la forme d'une seule unité dans la mole de la protéine il y aura 100 000/M moles de l'acide aminé pour 100 000 g de protéine de poids moléculaire M. S'il y en a deux, il y aura $2 \times 100\,000/M$ et d'une manière générale, si chaque macromolécule protéique contient n unités de l'acide aminé, le nombre y d'unités de l'acide aminé pour 100 000 g de protéine, nombre qu'on peut exactement déterminer, donnera

$$y = 100\,000 \, n/M$$

$$\text{ou } M/n = 100\,000/y$$

Puisqu'on peut déterminer le nombre y, on peut calculer le poids moléculaire minimum M/n . Quant à M, il sera déterminé par diverses méthodes (ultracentrifugation, pression osmotique, etc.). Une protéine est formée par l'association d'une série de polypeptides, chacun portant à une extrémité un groupe α -aminé libre, et un groupe α -carboxyle libre à l'autre bout.

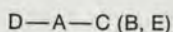
Tableau 6-2 — COMPOSITION DES PROTEINES
(Tableau emprunté à Springall, 1954)
(Moles d'acides aminés 10³ g de protéine)

	β -Lactoglobuline	Ovalbumine	Conalbumine	Séralbumine humaine	Séralbumine de bœuf	Hémoglobine humaine	Hémoglobine humaine dans l'anémie falciforme	Hémoglobine de cheval	Ferritine	Insuline	Hormone lactogène	Hormone corticotrope	Ribonucléase	Chymotrypsinogène	Pepsine	Aldolase	Triosephosphate-déshydrogénase	Déphosphorylase	Lysozyme	Fibrinogène	Tropomyosine	Fibroïne de la soie de Bombyx mori
Gly.	20	40.6	76.0	21	24	64.6	64.9	74.8	45.3	57.4	53	66.4	17.3	70.6	85.3	74.9	81.1	52.0	76.0	74.7	—	581
Ala.	72	75.5	49.5	—	70	114.5	114.1	83.2	21.4	50.5	—	—	—	—	—	96.3	75.4	53.8	65.2	41.5	98.8	334
Val.	48.9	60.2	70.1	66	50	91.1	89.4	77.8	36.8	66.2	50	29.1	62.3	86.2	60.6	63.2	102.7	62.4	41.0	35.4	26.7	30.8
Leu.	118	70.2	67.1	84	94	115.0	110.7	117.6	145.9	100.9	93	59.5	0	79.3	79.3	87.7	51.9	80.2	52.6	54.2	119.0	7.0
Ileu.	45	53.5	38.2	13	20	15.7	14.5	0	10.7	21.1	55	23.7	23.6	43.5	82.3	60.3	69.4	49.7	39.7	36.7	—	8.4
Pro.	46.9	31.3	42.6	44.4	41	38.2	37.6	33.9	13.1	22	54	71.3	31.3	51.3	43.4	49.7	32.0	40.9	12.2	49.5	11.3	6.4
Phe.	23.9	46.4	34.5	47.3	40	46.4	45.8	46.6	37.0	49	25	24.2	21.8	21.8	38.7	18.5	33.7	37.6	18.8	27.9	27.9	20.4
Cy-S	19.1	4.3	31.7	46.4	54	—	—	3.8	14.2	104	26	60.0	54.2	27.5	13.6	9.3	9.1	3.6	66.6	19.0	6.3	—
Cy-SH	9.2	11.2	—	5.8	—	—	—	6.4	—	0	—	—	5	10.7	4.1	—	—	—	—	3.3	—	—
Met.	21.5	35.0	13.4	8.7	5	9.3	9.6	6.7	12.7	0	29	8.3	29.7	8.2	11.4	7.9	18.1	14.1	17.1	18.8	—	—
Try.	9.3	5.0	14.7	1	3	7.3	7.9	8.3	5.9	0	6	—	0	27.3	11.6	11.3	10.0	9.8	51.9	16.0	0	—
Arg.	16.5	32.9	43.7	35.7	34	18.9	19.7	21.0	52.3	17.6	49	49.5	29.6	16.2	5.7	36.4	30.1	66.7	73.0	44.8	44.8	6.3
His.	10.2	15.2	16.8	22.6	26	54.4	54.7	56.2	31.0	31.7	29	9.3	27.2	7.9	5.8	27.2	32.3	21.3	6.5	17.1	5.5	2.3
Lys.	77.5	43.2	68.5	84.3	88	66.0	66.2	66.1	53.4	17.2	36	34.3	71.1	54.7	6.2	65.4	64.6	43.9	39.0	63.0	107.4	4.7
Asp.	85.9	70	100.0	78.2	82	82.9	86.1	79.9	51.1	51.1	101	50.4	105.4	84.8	120.2	73.0	93.4	79.0	136.9	98.5	68.4	14.7
Glu.	146.5	112.2	80.9	118.6	104	48.8	49.2	57.9	117.1	125.1	96	106.1	88.3	61.2	89.9	77.7	32.5	92.6	29.3	98.7	223.6	20.8
Ser.	38.7	33.9	60.0	35.3	40	48.1	51.7	55.0	—	49.9	63	57.1	114.2	108.5	116.1	69.5	71.1	36.2	63.8	66.3	41.7	154.3
Thr.	43.4	34	49.6	42.0	49	49.1	50.4	36.6	36.1	17.5	40	26.9	75.6	95.7	80.6	62.9	61.1	36.9	46.2	51.7	24.4	13.5
Tyr.	20.6	20.3	24.0	26.0	28	16.5	16.6	16.7	27.6	72.0	26	13.3	43.8	16.3	46.9	29.3	25.2	32.6	18.7	5.5	17.2	70.7
Total	852	796	881	781	852	887	889	839	712	854	823	689	801	871	893	920	893	824	851	846	842	1,275

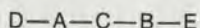
On peut déterminer le nombre de groupes α -aminés par exemple en utilisant un réactif au dinitrophénol (DNP), lequel se combine aux groupements α -aminés, et par conséquent déterminer le nombre de chaînes polypeptidiques formant une macromolécule protéique. Toutefois des chaînes polypeptidiques peuvent être associées par des liaisons disulfure très solides et il faut rompre ces dernières par l'oxydation au moyen de l'acide performique.

Les polypeptides résultant du fractionnement peuvent être analysés et la composition en acides aminés de chacun d'eux peut être déterminée. On peut aussi définir le résidu portant le NH_2 terminal (par la méthode au DNP). Dans le cas de chaînes courtes d'acides aminés, ces données peuvent déjà fournir la séquence. Prenons par exemple le cas d'un pentapeptide A, B, C, D, E dans lequel on reconnaît que D est l'acide aminé NH_2 -terminal. Supposons qu'on accomplisse une hydrolyse partielle fournissant par exemple les dipeptides D-A, A-C, B-E et C-B et les tripeptides dont on peut identifier le résidu NH_2 -terminal et qui, par suite, peuvent s'écrire D-(A, C) et A-(B, C).

Connaissant l'acide aminé terminal D, et puisqu'on a isolé le dipeptide D-A, les deux acides aminés voisins de l'extrémité NH_2 -terminal sont définis. L'isolement du dipeptide A-C et du tripeptide D-(A, C) permet d'écrire le pentapeptide comme ceci



Enfin, ayant isolé un dipeptide C-B, on connaît donc toute la séquence :



Le cas qui vient d'être décrit est particulièrement favorable du fait que chaque acide aminé de la séquence ne s'y trouve qu'une fois et que par conséquent l'isolement d'un dipeptide nous enseigne la position relative de ses deux acides aminés constituants.

Quant à la détermination de la localisation des ponts $-\text{S}-\text{S}$ dans la protéine, elle s'accomplit de la manière suivante. On hydrolyse la protéine, sans l'oxyder, en fragments. On sépare les fragments contenant des ponts $-\text{S}-\text{S}$ et on oxyde ces derniers pour transformer les $-\text{S}-\text{S}$ en $-\text{SH HS}-$ et on détermine la séquence des peptides ainsi formés ce qui permet de localiser les ponts $-\text{S}-\text{S}$ dans la séquence générale de la protéine.

Pour connaître cette dernière, il faut mettre en évidence la position relative d'une série de polypeptides séparés de la protéine et la séquence des acides aminés au sein de ces polypeptides. Pour obtenir ces derniers, on recourt à des enzymes protéolytiques, et plus particulièrement à la trypsine qui est spécifique de liaisons peptidiques déterminées. La séparation des peptides se fait surtout par chromatographie sur colonnes de résines échangeuses d'ions, les fractions étant recueillies lors de la séparation de la solution résultant de l'élution. La composition des peptides étant connue, on peut déterminer pour chacun, par les méthodes au DNP et au PTC (phénylisothonocyanate) la nature du résidu NH_2 -terminal.

Tableau 6-3
PEPTIDES IDENTIFIÉS DANS LES HYDROLYSATS DE LA FRACTION B DE L'INSULINE OXYDÉE
(d'après Sanger)

Dipeptides des hydrolysats acide et alcalin.	Phe.Val. Val.Asp. Asp.Glu.	Glu.	His. His.Leu. Leu.CySO ₃ H	CySO ₃ H.Gly Leu.CySO ₃ H	His.Leu. Leu.Val. Ser.His.	Glu.Al. Ala.Leu. Val.Glu.	Leu.Val. Val.CySO ₃ H	CySO ₃ H.Gly Gly.Glu. Glu.Arg	Arg.Gly Gly.Phe	Lys.Al. Thr.Pro
Tripeptides des hydrolysats acide et alcalin.	Phe.Val.Asp. Val.Asp.Glu.	Glu. Glu.	Leu.CySO ₃ H.Gly His.Leu. His.Leu.CySO ₃ H	Leu.CySO ₃ H.Gly Ser.His.Leu Ser.His.Leu	Val.Glu.Al. Leu.Val.Glu Ala.Leu.Tyr	Tyr.Leu.Val. Val.CySO ₃ H.Gly Leu.Val.CySO ₃ H	Gly.Glu.Arg.			Pro.Lys.Al.
Peptides élevés des hydrolysats acide et alcalin.	Phe.Val.Asp.Glu. Phe.Val.Asp.Glu. Glu.		His.Leu.CySO ₃ H.Gly His. His.Leu.CySO ₃ H	Ser.His.Leu.Val Leu.Val.Glu.Al. Ser.His.Leu.Val.Glu His.Leu.Val.Glu Ser.His.Leu.Val.Glu.Al.	Tyr.Leu.Val.CySO ₃ H Leu.Val.CySO ₃ H.Gly					Thr.Pro.Lys.Al.
Séquences déduites de ce qui précède.	Phe.Val.Asp.Glu.		His.Leu.CySO ₃ H.Gly	Ser.His.Leu.Val.Glu.Al.		Tyr.Leu.Val.CySO ₃ H.Gly Gly.Glu.Arg.				Thr.Pro.Lys.Al.
Peptides des hydrolysats peptiques.	Phe.Val.Asp.Glu.		His.Leu.CySO ₃ H.Gly His. His.Leu.CySO ₃ H	Ser.His.Leu Val.Glu.Al. Ser.His.Leu	Leu.Val.CySO ₃ H.Gly Gly.Glu.Arg.					Tyr.Thr.Pro.Lys.Al.
Peptides des hydrolysats chymotryptiques.	Phe.Val.Asp.Glu.		His.Leu.CySO ₃ H.Gly	Ser.His.Leu.Val.Glu.Al.		Leu.Val.CySO ₃ H.Gly Gly.Glu.Arg.				Tyr.Thr.Pro.Lys.Al.
Peptides des hydrolysats tryptiques.										Gly.Phe.Phe.Thr.Pro.Lys.Al.
Structure de la fraction B de l'insuline.	Phe.Val.Asp.Glu.		His.Leu.(CyS—).Gly.	Ser.His.Leu.Val.Glu.Al.	Leu.Tyr.Leu.Val.(CyS—).Gly.Glu.Arg.Gly.Phe.Phe.Thr.Pro.Lys.Al.					

4. Structures secondaire, tertiaire et quaternaire

Les polypeptides constituant les protéines existent en tout ou en partie sous la forme de l'enroulement en hélice α décrit par Pauling et Corey (Fig. 6-18 et 6-21).

La configuration des chaînes polypeptidiques (structure secondaire) représente une étape de l'analyse faisant suite à celle de la détermination de la simple séquence des acides aminés (structure primaire).

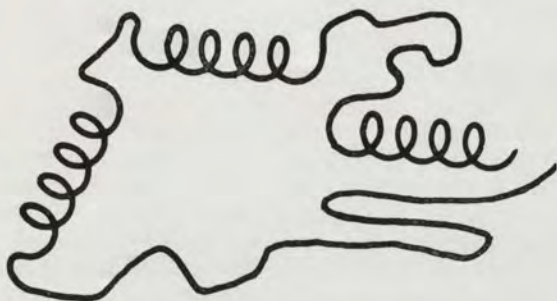


FIG. 6-21. Configuration schématique d'une protéine globulaire dont diverses portions se trouvent sous forme hélicoïdale (d'après Steiner).

Les formes d'organisation spatiale des protéines, autres que la forme en hélice- α , sont habituellement groupées sous la dénomination de structure tertiaire, laquelle implique des interactions entre chaînes latérales des polypeptides. Les forces intervenant dans l'établissement de la structure tertiaire des protéines sont représentées dans la figure 6-22.

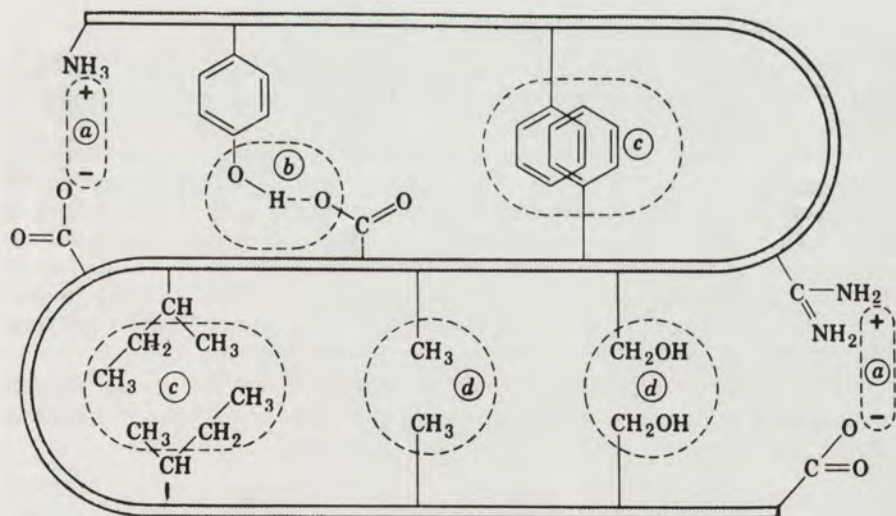


FIG. 6-22. Les différents types d'interaction entre les chaînes latérales d'une protéine globulaire a) interaction électrostatique ; b) liaison hydrogène (tyrosil-carboxyl) ; c) contact entre deux portions hydrophobes ; d) interaction dipôle-dipôle (d'après Steiner).

Une même protéine peut, d'autre part, former une superarchitecture par l'association d'un certain nombre de ses molécules. De la structure quaternaire ainsi définie peuvent dépendre des propriétés que ne possèdent pas les macromolécules isolées.

La déshydrogénase du glutamate est un enzyme dont le poids moléculaire est voisin de $1 \cdot 10^6$. Il est formé de l'association de quatre monomères ($PM \ 2.5 \cdot 10^5$) qui, pris isolément, n'ont aucune activité catalytique vis-à-vis du glutamate. C'est leur association en tétramère qui est responsable de cette propriété.

D. NUCLÉOPROTÉINES

Les nucléoprotéines sont des macromolécules formées par la réunion de protéines et d'acides nucléiques. Les acides nucléiques sont eux-mêmes des hauts polymères de nucléotides. L'hydrolyse complète des acides nucléiques séparés des nucléoprotéines fournit de l'acide phosphorique, des purines, des pyrimidines et des oses furanniques. Ces derniers sont soit le D-ribose (acides ribonucléiques) soit le 2-désoxy-D-ribose (acides désoxyribonucléiques). Ils ont soit trois, soit deux —OH disponibles pour l'estérification. Le nombre des nucléotides possibles, pouvant entrer dans la composition des acides nucléiques est donc très élevé.

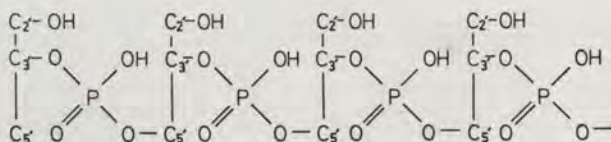
Deux purines, l'adénine et la guanine, entrent dans la constitution de tous les acides nucléiques. Il en est de même pour une pyrimidine, la cytosine. Outre ces purines et cette pyrimidine constamment présentes, on trouve dans les acides ribonucléiques de l'uracile et, dans les acides désoxyribonucléiques de la thymine et de la 5-méthylcytosine.

1. Propriétés des deux catégories d'acides nucléiques

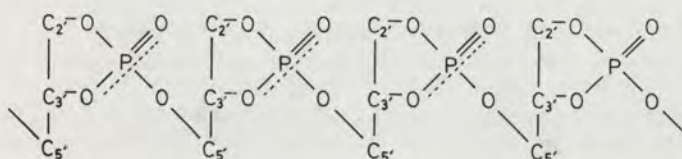
a) Acides ribonucléiques (RNA)

Ces mélanges complexes ne contiennent que quatre bases : adénine, guanine, cytosine et uracile. Les proportions relatives de ces bases ne diffèrent pas beaucoup de l'unité, ce qui, étant donné qu'il n'en est pas ainsi pour les chaînes polynucléotidiques isolées à partir des acides ribonucléiques, est un indice de la complexité de ce qu'on a accoutumé d'appeler un « acide ribonucléique ». Les nucléosides qui entrent dans la composition de l'acide ribonucléique de levure sont des β -D-ribofuranosides dans lesquels l'adénine et la guanine sont liées en 9-N et la cytosine et l'uracile en 3-N. Il apparaît que le ribose est toujours le glucide des substances qu'on appelait autrefois les acides pentoses-nucléiques, et on peut donc les nommer ribonucléiques.

La liaison internucléotidique qui prédomine dans les acides ribonucléiques est le pont d'ester phosphorique C-3', C-5' entre deux nucléotides adjacents :



Dans un tel schéma, C-2', C-3', C-5', représente un résidu de nucléotide. La présence d'un —OH sur C-2' explique, par analogie avec les connaissances acquises au sujet des esters de mononucléotides, que la dégradation alcaline procède par l'intermédiaire d'une structure cyclique

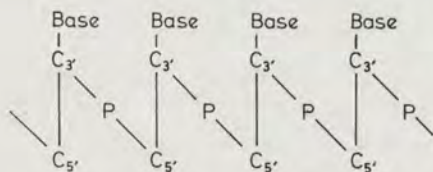


fournissant des nucléosides-2', 3'-phosphates cycliques par scission de la liaison C-5'—O—P, comme indiqué dans le schéma ci-dessus.

L'isolement des acides ribonucléiques est difficile, ce qui complique la détermination de leur structure et de leur composition. Toutefois, on a pu montrer que l'acide ribonucléique des animaux diffère de celui de la levure, et que les acides ribonucléiques des divers organes d'une même espèce sont plus différents les uns des autres que ceux d'un organe déterminé prélevé chez diverses espèces. Contrairement aux acides désoxyribonucléiques, les acides ribonucléiques diffèrent donc, non seulement d'espèce à espèce, mais aussi de tissu à tissu dans la même espèce. En outre, l'acide ribonucléique des noyaux diffère de celui du cytoplasme, et les conditions de milieu le font aussi varier.

b) Acides désoxyribonucléiques (DNA)

Les acides désoxyribonucléiques qui n'ont pas de fonction OH en C-2', diffèrent des ribonucléiques par une liaison internucléotidique plus stable. En effet, bien que la liaison soit aussi établie entre les C-3' et C-5' des molécules adjacentes d'oses, la cyclisation décrite plus haut dans le cas des acides ribonucléiques est impossible, ce qui confère aux acides désoxyribonucléiques une plus grande stabilité. Leur structure générale est la suivante :



La notion de la structure hélicoïdale des acides désoxyribonucléiques a d'abord été suggérée par Pauling et Corey (1953), à la suite de recherches au moyen de la méthode de diffraction des rayons X. Une autre structure hélicoïdale tenant compte d'un plus grand nombre de faits a été proposée par Watson et Crick (1953) (Fig. 6-23). Elle comporte deux chaînes hélicoïdales enroulées autour d'un même axe. Les deux chaînes ont un

enroulement parallèle, mais la suite des atomes est inverse. Les pyrimidines et les purines sont dirigées vers l'intérieur, et les phosphates vers l'extérieur. Le long de l'enroulement, un nucléotide occupe une longueur de 3,4 Å, et l'unité qui se répète est constituée par une suite de dix nucléotides, suite qui a une longueur de 34 Å. L'angle entre deux nucléotides adjacents dans la même chaîne est de 36° . Les bases puriques et pyrimidiques, étant dirigées vers l'intérieur, sont perpendiculaires à l'axe de l'enroulement, et associées deux à deux en paires appartenant aux deux chaînes, elles sont jointes par des liaisons hydrogène. Comme il n'y a pas la place nécessaire pour mettre deux purines bout à bout, et comme deux pyrimidines formeraient un pont trop court, les seules associations possibles sont les paires adénine-thymine et guanine-cytosine ⁽¹⁾. La forme de ces liaisons est représentée dans la figure 6-24.

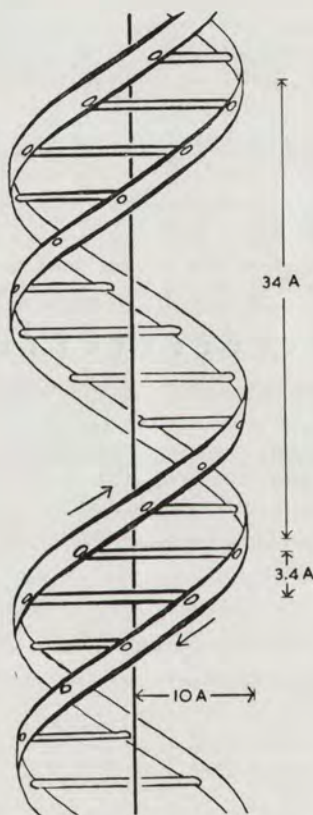


FIG. 6-23. Structure hélicoïdale de l'acide désoxyribonucléique (d'après Watson et Crick).

⁽¹⁾ Il n'y a pas de liaison hydrogène possible entre adénine et cytosine alors que dans le cas de la guanine et de la thymine, seule une liaison peut s'établir. Les configurations (a) et (b) de la figure 6-24 sont donc les plus stables.

Les acides désoxyribonucléiques sont plus stables que les ribonucléiques et par conséquent un plus grand nombre de résultats ont été acquis au sujet de leur poids moléculaire, atteignant six millions.

La composition des acides désoxyribonucléiques varie d'une espèce à une autre, mais elle apparaît comme étant la même dans les différents organes et comme n'étant pas influencée par les variations du milieu.

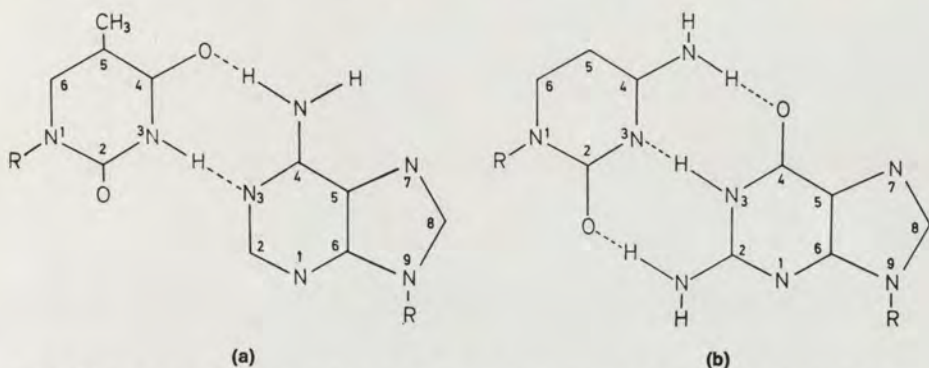


FIG. 6-24. Liaisons hydrogène compatibles avec l'hypothèse de Watson et Crick. En (a) la paire adénine-thymine ; en (b) la paire guanine-cytosine. Les doubles liaisons ne sont pas indiquées.

A CONSULTER

- ACKERMAN, E., *Biophysical science*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1962.
- ANDERSON, H. V., *Chemical calculations*. McGraw Hill, New York, 1955.
- CHRISTENSEN, H. N., *Diagnostic biochemistry. Quantitative distributions of body constituents and their physiological interpretation*. Oxford Univ. Press, New York, 1959.
- NACHMANSOHN, D., *Molecular biology*. Academic Press, New York, 1960.
- PAULING, L. et COREY, R. B., *Nature*, 1953, **171**, 59.
- PAULING, L., COREY, R. B. et BRANSON, H. R., *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 1951, **37**, 205.
- PULLMAN, B. et PULLMAN, A., *Quantum biochemistry*. Interscience Publishers, New York, 1963.
- SANGER, F. et TUPPY, H., *Biochem. J.*, 1951, **49**, 463.
- SPRINGALL, H. D., *The structural chemistry of proteins*. Butterworth, London, 1954.
- STEINER, R. F., *The chemical foundations of molecular biology*. Van Nostrand Co., Princeton, 1965.
- WATSON, J. D. et CRICK, F. H., *C. Nature*, 1953, **171**, 737.
- Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason) Vol. 3, 4 (1962), 7 (1964), Academic Press, New York.
- Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 2, 3, 4 (1962), 5, 7, 8 (1963), Elsevier Publishing Co. Amsterdam.
- Traité de biochimie générale (Publié sous la direction de M. Javillier, M. Polonovski, M. Florkin, P. Boulanger, M. Lemoigne, J. Roche et R. Wurmser). Vol. 1, Fasc. 1 et 2, Vol. 2, Fasc. 1. Masson, Paris, 1959, 1962.

CHAPITRE 7

La catalyse biochimique et les enzymes

I. Définition	154
L'énergie d'activation	155
II. Caractères généraux des enzymes : enzymes, coenzymes et activateurs .	158
III. Cinétique	159
A. Mesure de l'activité enzymatique	159
B. Influence de la température	160
C. Influence du pH	160
D. Influence des agents précipitant les protéines	160
E. Le complexe enzyme-substrat	162
F. Influence de la concentration de l'enzyme et du substrat	162
G. Inhibition compétitive et non compétitive	165
IV. Mécanisme de la catalyse enzymatique	167
A. Rôle des enzymes	167
B. Rôle des coenzymes	171
1. Coenzymes de transfert d'électrons (ou d'hydrogène)	172
a) réactions catalysées par les coenzymes pyridiniques	175
b) réactions catalysées par les flavoprotéines	176
c) réactions catalysées par les cytochromes	177
2. Coenzymes de transfert de groupes	177
a) phosphate de pyridoxal	177
b) pyrophosphate de thiamine	178
c) acide folique	178
d) coenzyme A (CoA)	178

V. Classification et nomenclature des enzymes	179
A. Règles générales de classification	179
B. Quelques exemples de la liste des enzymes	180
1. Les oxydoréductases	180
2. Les transférases	181
3. Les hydrolases	182
4. Les lyases	183
5. Les isomérases	184
6. Les ligases	184

I. DÉFINITION

Pour qu'une réaction puisse s'accomplir spontanément, il faut que son ΔF soit négatif. Mais ce n'est pas une condition suffisante pour que la réaction se déroule. S'il est vrai que l'essence d'automobile a un ΔF d'oxydation très négatif, elle reste stable en présence d'air, comme restent aussi stables, dans un magasin d'alimentation, au contact de l'oxygène de l'air, ces aliments destinés à fournir de l'énergie au cours des oxydations s'accomplissant, en présence d'oxygène, dans l'organisme humain. Pour réagir, la plupart des molécules doivent être activées : le fait d'approcher une allumette enflammée de la surface de l'essence apporte l'activation.

Pour qu'une réaction s'effectue, on considère généralement qu'il doit y avoir collision entre les réactifs. Pourtant dans la réaction



si on détermine le nombre de collisions intervenant par unité de temps entre les espèces moléculaires A et BC, on constate qu'il excède largement le nombre de molécules réagissant pour donner les produits AB et C. On est donc amené à conclure que toutes les collisions ne sont pas également efficaces.

Conformément au concept de l'activation introduit par Arrhenius, le contenu énergétique des molécules n'est pas constant mais subit de continues variations. En outre, on peut décomposer l'énergie d'une molécule en trois composantes principales : il s'agit des énergies de translation, de rotation et de vibration. L'énergie totale de la molécule se répartit entre les trois formes possibles et cette distribution varie de façon statistique.

Les trois formes possibles de l'énergie ne sont pas également importantes pour que la réaction ait lieu : c'est l'énergie de vibration qui, à ce point de vue, déterminera s'il y a réaction ou non, c'est-à-dire s'il y a réorganisation des édifices moléculaires.

Ceci explique pourquoi les collisions entre réactifs ne sont pas toutes également efficaces. Certaines molécules, les molécules dites activées, ont un niveau énergétique plus élevé que les autres et cette différence, principalement localisée dans l'énergie de vibration, leur permet d'entrer en réaction.

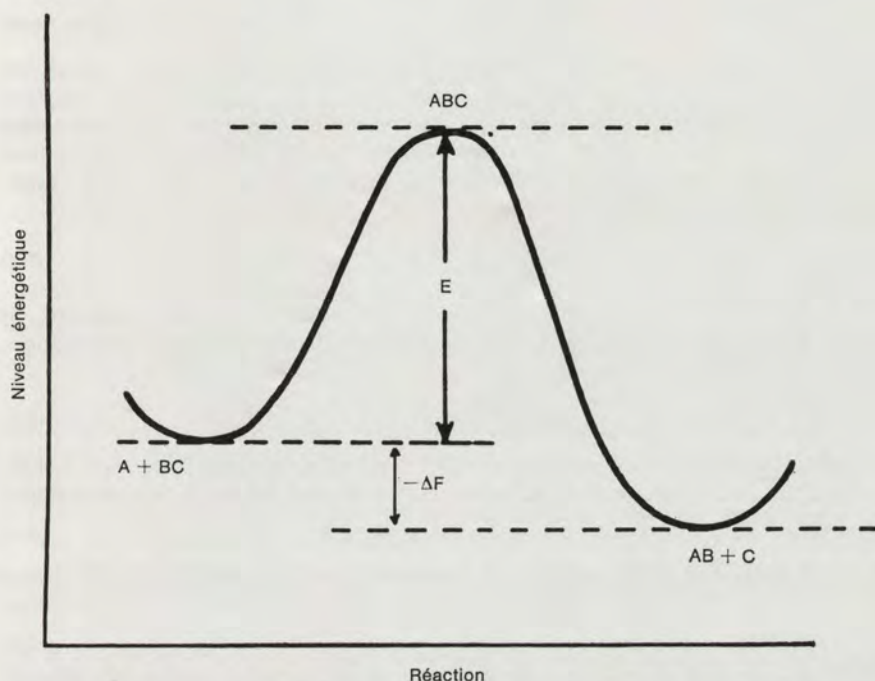


FIG. 7-1. Niveaux énergétiques en fonction du déroulement de la réaction.

On peut représenter schématiquement cette situation par la figure 7-1 qui montre que le niveau énergétique de certaines molécules, les molécules dites activées, est plus élevé que le niveau énergétique moyen de la population de molécules considérées.

On peut définir à l'aide d'une constante d'équilibre K^+ , la relation existant entre les molécules activées M' et les molécules M possédant le niveau énergétique moyen. Dans ces conditions, on peut écrire

$$M \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_{+1}} M' \quad \text{où} \quad K^+ = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{M'}{M} \quad (7-1)$$

L'équation de van't Hoff concernant l'effet de la température sur la constante d'équilibre d'une réaction chimique peut s'écrire

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta H}{RT^2} \quad (7-2)$$

dont l'intégration donne

$$\ln K = B - \frac{\Delta H}{RT} \quad (7-3)$$

où K est la constante d'équilibre, B une constante d'intégration, ΔH la

variation d'enthalpie (en cal M⁻¹) accompagnant la transformation d'une mole de réactifs en une mole de produits, R la constante des gaz (1.98 cal M⁻¹ deg⁻¹) et T la température absolue. En coordonnées logarithmiques, la valeur de K exprimée en fonction de $\frac{1}{T}$, doit donner une droite

dont la pente est égale à $\frac{\Delta H}{R}$. Arrhenius a proposé d'utiliser cette relation pour déterminer l'énergie d'activation. En effet, puisqu'un accroissement de la température augmentera la vitesse d'une réaction chimique, l'effet de la température sur l'équilibre défini en (7-1) peut être considéré comme affectant la vitesse de formation des molécules actives et une relation identique à (7-3) peut donc être utilisée. Dans ces conditions, on a

$$K^{\dagger} = A e^{-\frac{E}{RT}} \quad (7-4)$$

où A est une constante en relation avec la fréquence des collisions et l'orientation des molécules entrant en contact, E est l'énergie d'activation. (7-4) peut s'écrire

$$\ln K^{\dagger} = \ln A - \frac{E}{RT} \quad (7-5)$$

En comparant les équations (7-4) et (7-5) avec l'équation de van 't Hoff, il est clair que E est en relation avec l'enthalpie et on peut démontrer que

$$E = \Delta H + RT \quad (7-6)$$

En pratique, et dans les limites des températures physiologiques, on considère que $E = \Delta H$ (RT est en effet voisin de 600 cal M⁻¹). La constante d'équilibre $K^{\dagger}$, pour la réaction (7-1) conduisant à la formation du complexe activé, peut s'exprimer en fonction de la variation d'énergie libre et

$$\Delta F^{\dagger} = -RT \ln K^{\dagger} = \Delta H^{\dagger} - \Delta S^{\dagger}T \quad (7-7)$$

où le symbole † indique que les fonctions envisagées sont associées avec le complexe activé.

La relation (7-5) montre que le facteur de fréquence A de l'équation d'Arrhenius est contrôlé par la valeur de l'entropie d'activation, et que la quantité $\Delta H^{\dagger}$ est associée à l'énergie d'activation E. Le facteur $e^{-\frac{E}{RT}}$

est l'expression de Boltzmann pour cette fraction du système ayant l'énergie E en excès sur la valeur moyenne de l'énergie thermique du système. Il s'agit des molécules qui ont suffisamment d'énergie pour entrer en réaction.

Il est apparent que dans le cas d'une énergie d'activation élevée (20 Kcal M⁻¹ par exemple), pour obtenir une vitesse de réaction appréciable, nous devons augmenter la température. Dans une solution de saccharose, par exemple, le nombre des molécules activées est extrêmement faible, mais si on augmente la température de 10°, leur concentration est multipliée par deux ou par trois. Les molécules activées ont une plus grande vitesse et une plus grande labilité.

Quand les molécules ont absorbé une certaine quantité d'énergie (E dans la figure 7-1), les réactifs réagissent et fournissent les produits de la

réaction. Toutefois, la nécessité de l'activation peut être réduite, à des degrés variables, par la présence de catalyseurs qui, en somme, abaissent la barrière énergétique de l'activation. Ceci est bien montré dans le tableau 7-1, où l'énergie d'activation de certaines réactions a été calculée dans différentes conditions expérimentales.

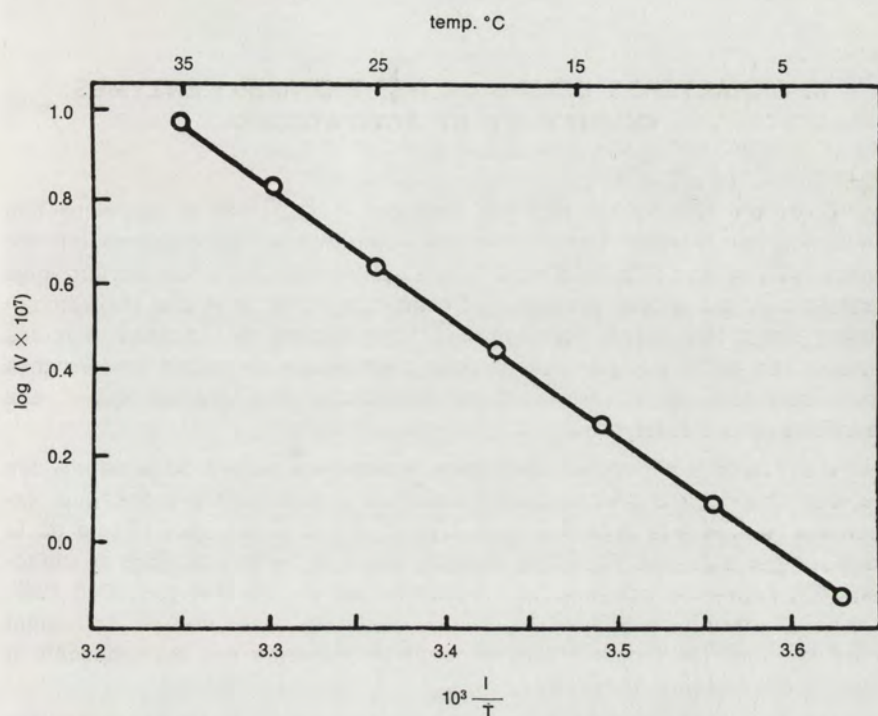


FIG. 7-2. Hydrolyse de l'ATP par la myosine en fonction de la température, selon l'équation d'Arrhenius.

Tableau 7-1

ÉNERGIE D'ACTIVATION DE QUELQUES RÉACTIONS CATALYSÉES

Réaction	Catalyseur	E Kcal M ⁻¹
Décomposition de H ₂ O ₂	aucun	18.0
	platine colloïdal	11.7
	catalase	< 2.0
Hydrolyse de la caséine	H ⁺	20.6
	trypsine	12.0
Hydrolyse du saccharose	H ⁺	25.7
	invertase (levure)	11.0
Hydrolyse de l'hydantoïne	hydantoïnase (foie)	5.3

Dans la biosphère, les réactions ne s'accomplissent pas à des températures très élevées et la plupart d'entre elles s'accomplissent grâce à la présence de catalyseurs organiques qu'on nomme enzymes. On peut considérer que les enzymes ont pour rôle d'accélérer des réactions qui sont thermodynamiquement possibles, en abaissant leur énergie d'activation.

II. CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES ENZYMES : ENZYMES, COENZYMES ET ACTIVATEURS

C'est en 1926 qu'un enzyme, l'uréease, a été pour la première fois cristallisé par Sumner. Depuis lors, de nombreux autres enzymes ont été cristallisés, et leur liste va constamment en augmentant. Tous ces enzymes purifiés sont de nature protéique, c'est-à-dire qu'ils sont des macromolécules (donc PM élevé) formées par l'association de chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. En outre les enzymes sont thermolabiles et doués d'une spécificité très grande quant aux réactions qu'ils catalysent.

Il est rapidement apparu que certains enzymes étaient de la nature des hétéroprotéines, c'est-à-dire contenaient un groupement prosthétique fermement attaché à la protéine (apoenzyme). C'est le cas pour l'hème de la catalase par exemple. Toutefois, il existe aussi un certain nombre de cofacteurs en l'absence desquels la biocatalyse ne s'accomplit pas. Dès 1897, Gabriel Bertrand introduisait la dénomination de coenzyme ou coferment pour désigner les ions métalliques dont la présence est indispensable à l'action de certains enzymes.

On désigne couramment sous le nom de coenzymes⁽¹⁾ des molécules organiques de petite taille qui sont indispensables au déroulement de la biocatalyse mais qui ne sont pas incluses dans la molécule de l'enzyme tel qu'on peut l'isoler. Il existe donc des enzymes qui sont inactifs en l'absence d'un coenzyme.

D'autre part, lorsqu'un ion attaché fermement ou non à la protéine est indispensable à son action biocatalytique, on l'appelle activateur. L'étude du mécanisme d'action des enzymes, des coenzymes et des activateurs est actuellement en plein développement. Aussi nous contenterons-nous provisoirement de la terminologie sommaire qui vient d'être énoncée et dans le cadre de laquelle prennent place des mécanismes très divers dont les pages qui suivent donneront des exemples tirés des mécanismes biochimiques généraux de la biosphère.

⁽¹⁾ La distinction entre coenzyme et groupement prosthétique repose essentiellement sur la plus ou moins grande labilité du complexe. Comme nous le verrons plus loin les nucléotides flaviniques sont fermement liés à la protéine contrairement à ce qu'on observe avec les nucléotides de la pyridine. En conséquence, on pourrait considérer les nucléotides flaviniques comme étant des groupements prosthétiques.

III. CINÉTIQUE

A. MESURE DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

La vitesse d'une réaction enzymatique peut s'exprimer en mesurant soit la disparition du substrat (S), soit l'apparition du produit de la réaction (P). Dans le cas de la réaction

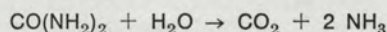


la vitesse sera donnée par

$$v = - \frac{S_t - S_o}{t} = \frac{P_t - P_o}{t} = - \frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt} \quad (7-8)$$

où les indices o et t indiquent les concentrations présentes au temps o et au temps t.

Considérons, par exemple, l'hydrolyse des groupements amides de l'urée ou carbamide, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, hydrolyse catalysée par un enzyme spécifique (l'amidase appelée uréase) :



Les conditions (pH, température, concentration de l'urée, concentration de l'uréase) étant fixées, nous pouvons, à des intervalles de temps définis, prélever des échantillons de la solution aqueuse d'urée et d'uréase, inactiver aussitôt l'enzyme et doser, par exemple, l'ammoniaque.

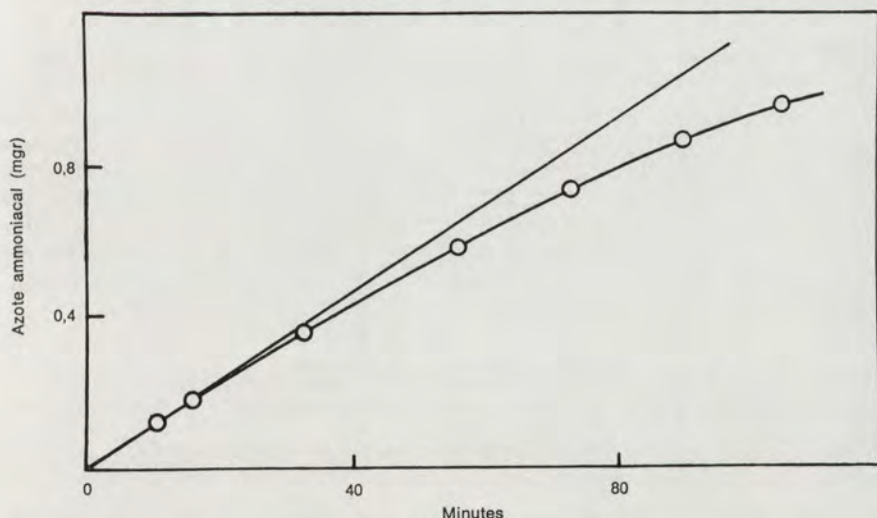


FIG. 7-3. Production d'ammoniaque dans l'hydrolyse de l'urée en présence d'uréase.

Si on porte sur un graphique la quantité d'azote ammoniacal apparaissant dans le milieu d'incubation en fonction du temps, on obtient la courbe de la figure 7-3. On doit se demander pourquoi les résultats obtenus

se situent sur une courbe et non sur une droite. Ce fait complique en effet considérablement l'expression des résultats puisqu'il indique que la réaction ne se produit pas à vitesse constante pendant toute la durée de l'expérience. Ce phénomène s'explique parce que la composition du milieu ne reste pas constante. Il est donc nécessaire de tenir compte des changements modifiant l'allure du phénomène. Pour remédier à cet inconvénient, on peut, soit déterminer le temps nécessaire pour produire un certain changement chimique, soit estimer le changement intervenant dans un temps très court. Ceci implique l'utilisation de microméthodes.

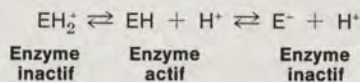
En pratique on utilise toutefois un procédé graphique qui permet de déterminer la vitesse initiale v_i de la réaction en traçant la tangente à l'origine de la courbe obtenue expérimentalement. Dans ces conditions, et à partir de la droite obtenue, on peut calculer la vitesse initiale de la réaction.

B. INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE

Si on considère l'équation établie par Arrhenius, il apparaît que la température influence la vitesse d'une réaction catalysée. Dans le cas des enzymes, ce fait se vérifie, mais se complique en raison de la nature chimique du biocatalyseur. Nous avons signalé plus haut qu'il s'agit de protéines, donc de constituants thermolabiles. En conséquence, une élévation de température se traduira par un accroissement de la vitesse, qui passera par un maximum puis décroîtra en fonction de l'effet dénaturant de la chaleur sur la protéine enzymatique.

C. INFLUENCE DU pH

Si on fait varier le pH, on observe en général que la vitesse initiale passe par un maximum correspondant à ce qu'on appelle le pH optimum (Fig. 7-4). Ceci est une conséquence de la nature protéique de l'enzyme. On explique le phénomène en admettant que la partie active de l'enzyme (le ou les sites actifs) consiste en un groupe dont la dissociation varie avec le pH. Seule une forme du groupe serait active. Les variations du pH modifient par conséquent la concentration en enzyme actif de la solution.



D. INFLUENCE DES AGENTS PRÉCIPITANT LES PROTÉINES

Tous les agents dénaturant les protéines (agitation violente, rayons UV et X, etc.) inhibent l'activité enzymatique. Parmi ces agents, il est intéressant de considérer plus en détail les substances qui forment des sels insolubles avec les protéines. Il s'agit des ions métalliques lourds et d'une catégorie particulière d'anions organiques fortement chargés négativement.

L'ionisation et la charge électrique nette d'une protéine dépendent du pH de la solution.

La figure 7-5 montre l'influence des ions Ag^+ sur l'activité de l'invertase à différents pH. Les courbes ont été obtenues avec des concentrations croissantes d'ions Ag^+ ($1 = 5 \cdot 10^{-7} \text{ M}$, $8 = 10^{-4} \text{ M}$). Elles montrent que pour obtenir le même degré d'inhibition à des valeurs différentes du pH, il faut

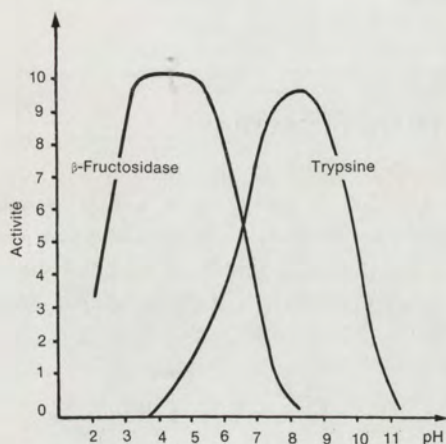


FIG. 7-4. Activité de la β -fructosidase (invertase) et de la trypsine à différentes valeurs du pH (d'après Michaelis et Davidsohn).

augmenter la concentration en ions Ag^+ lorsque le pH diminue. D'autre part, la concentration en ions Ag^+ nécessaire pour obtenir une inhibition complète de l'invertase est inférieure à celle requise pour précipiter la protéine : on doit donc s'attendre à ce que l'effet inhibiteur de certains ions varie avec le pH. C'est en effet ce qu'on observe.

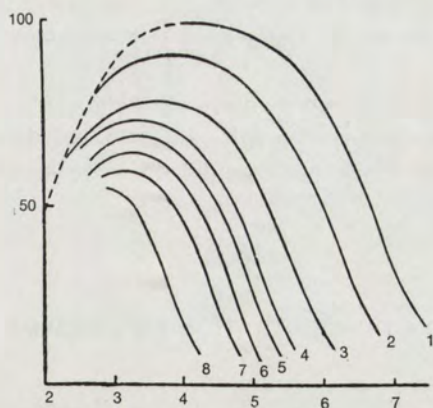
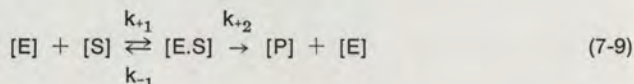


FIG. 7-5. Influence des ions Ag^+ en fonction du pH sur l'activité de l'invertase de la levure (d'après Myrbäck).

L'inactivation de l'enzyme apparaîtra également bien avant la neutralisation de toutes les charges. On est donc amené à conclure que seul un nombre limité de charges jouent un rôle dans le phénomène de la catalyse. **L'activité enzymatique n'est donc pas le résultat d'une propriété de la protéine prise dans son ensemble, mais est associée à l'existence de centres ou sites actifs.**

E. LE COMPLEXE ENZYME-SUBSTRAT

Il est difficile d'imaginer dans l'état actuel de nos connaissances comment un catalyseur pourrait agir s'il ne s'unissait pas avec le substrat. On est donc amené à conclure, comme l'a proposé Victor Henri, que dans le cas des enzymes, il y a formation d'un complexe intermédiaire enzyme-substrat et on écrit



où E représente l'enzyme, S le substrat, E.S le complexe enzyme-substrat et P les produits de la réaction.

Il y a d'ailleurs de nombreux arguments en faveur de la formation du complexe E.S. La réduction du peroxyde d'hydrogène par le pyrogallol (donneur d'hydrogène) en présence de peroxydase s'accompagne de la formation d'un complexe enzyme-peroxyde. La peroxydase est une porphyrine ferrique présentant un spectre à quatre maximums (654, 583, 548 et 498 mμ). En présence de peroxyde, le spectre ne présente plus que deux maximums (561 et 530 mμ). La quantité de H₂O₂ nécessaire pour transformer la totalité des molécules enzymatiques est dans la relation stoechiométrique d'une molécule de H₂O₂ pour chaque atome de fer de la porphyrine.

Un autre exemple démontrant la formation d'un complexe comme étape intermédiaire dans la réaction catalysée, est donné par la considération des variations de la fluorescence de certains coenzymes, lorsqu'ils s'unissent à la protéine enzymatique.

F. INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DE L'ENZYME ET DU SUBSTRAT

La vitesse de catalyse dépend, toutes choses étant égales, de la concentration de l'enzyme et du substrat. On trouve que, dans la majorité des cas, la vitesse initiale augmente avec l'accroissement de la concen-

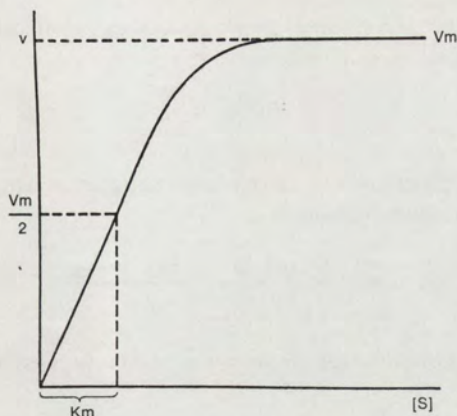


FIG. 7-6. Vitesse initiale de la réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat. La courbe illustre l'équation (7-17) et permet de déterminer K_m .

tration en substrat jusqu'à atteindre un maximum (Fig. 7-6). La vitesse maximum limite (V_m) atteinte dépend de la concentration en enzyme et est en fait directement proportionnelle à cette concentration. Il est possible d'exprimer ces observations sous forme quantitative. Considérons la relation

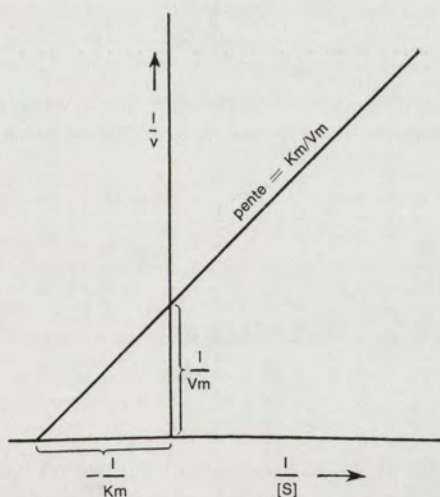
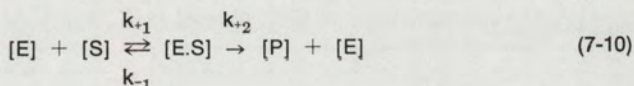


FIG. 7-7. Réciproque de la vitesse initiale en fonction de la réciproque de la concentration en substrat. Equation (7-19).

les k représentent les constantes de vitesse. Il est clair que la vitesse de la réaction peut s'écrire

$$v = k_{+2} [E.S] \quad (7-11)$$

D'autre part, il est possible de définir une constante K_m (la constante de Michaelis) caractérisant l'équilibre

$$K_m = \frac{[E][S]}{[E.S]} = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} \quad (7-12)$$

La quantité totale d'enzyme présente dans le système est par unité de volume

$$[E^0] = [E] + [E.S] \quad (7-13)$$

D'après (7-12)

$$[E] = K_m \frac{[E.S]}{[S]} \quad (7-14)$$

En remplaçant dans (7-13), il vient :

$$[E^0] = [E.S] \left(\frac{K_m}{[S]} + 1 \right) \quad (7-15)$$

D'où on tire

$$[E.S] = \left(\frac{[E^0]}{\frac{K_m}{[S]} + 1} \right) \quad (7-16)$$

En multipliant par k_{+2} on a l'expression de la vitesse en fonction de la concentration en enzyme $[E^0]$ et de la concentration en substrat $[S]$.

$$v = k_{+2} [E.S] = \frac{k_{+2} [E^0]}{\frac{K_m}{[S]} + 1} \quad (7-17)$$

Si $[S]$ est très grand $\frac{K_m}{[S]}$ tend vers 0 et

$$v = k_{+2} [E^0] = V_m \quad (7-18)$$

C'est l'expression de la vitesse maximum qui, ainsi que l'indique l'équation (7-18), est directement proportionnelle à la concentration en enzyme. Si donc on exprime la vitesse de la réaction en fonction de la concentration en substrat, on obtient la courbe de la figure 7-6.

Il est intéressant de remarquer que si dans l'équation (7-17)

$$[S] = K_m$$

$$v = \frac{V_m}{2}$$

Ce qui signifie qu'à partir de la figure 7-6, on peut déterminer la valeur de K_m . Il s'agit de la constante de Michaelis qui a pour dimensions celles d'une concentration. D'après (7-12) on peut voir que K_m est la réciproque de la constante d'équilibre K .

Une façon plus précise de déterminer K_m consiste à exprimer la réciproque de la vitesse $\frac{1}{v}$ en fonction de la réciproque de la concentration en substrat $\frac{1}{[S]}$ (Fig. 7-7).

Dans ces conditions

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} + \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[S]} \quad (7-19)$$

Pour $\frac{1}{[S]} = 0$, on a

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m}$$

Dans le cas où

$$\frac{1}{v} = 0$$

on a : $-\frac{1}{[S]} = \frac{1}{K_m}$ c'est-à-dire que l'intersection de la droite expérimentale avec la portion négative de l'abscisse donnera $-\frac{1}{K_m}$, ce qui permet de déterminer graphiquement la valeur de K_m .

G. INHIBITION COMPÉTITIVE ET NON COMPÉTITIVE

De nombreuses substances (inhibiteurs) interfèrent avec l'activité d'une enzyme. Comment l'inhibition observée peut-elle être expliquée ? On peut considérer que l'inhibiteur se combine avec l'enzyme pour former un complexe $[EI]$ inactif ou encore que l'inhibiteur se combine avec le complexe $[ES]$ pour donner un autre complexe $[ESI]$ également inactif. Dans le premier cas, il y aura compétition entre le substrat et l'inhibiteur pour les sites actifs de l'enzyme alors que dans le deuxième cas l'inhibiteur se fixera sur d'autres sites que ceux normalement occupés par le substrat, mais empêchera toutefois la réaction de se dérouler normalement (inhibition non compétitive).

Par un raisonnement analogue à celui qui nous a permis de définir

la relation existant entre la vitesse de la réaction et les concentrations en enzyme et en substrat, on peut montrer qu'en présence d'un inhibiteur

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_I'} \right) + \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right) \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[S]} \quad (7-20)$$

$$\text{où } K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

et

$$K_I' = \frac{[E.S][I]}{[ES]I}$$

On peut voir qu'en l'absence d'inhibiteur, c'est-à-dire si $I = 0$, (7-20) est identique à (7-19).

Si K_I prend une valeur infiniment grande, c'est-à-dire s'il n'y a pas de formation du complexe $[EI]$, on a une inhibition compétitive indiquant que I se fixe aux mêmes points que S sur l'enzyme. Dans ce cas les deux droites expérimentales obtenues en exprimant la réciproque de la vitesse en fonction de la réciproque de la concentration en substrat en présence et en absence d'inhibiteur auront la même ordonnée à l'origine.

Par contre si K_I est infiniment grand (c'est-à-dire s'il n'y a pas formation du complexe $[EI]$), les deux droites expérimentales auront des ordonnées à l'origine qui seront différentes.

Dans les cas où la réaction catalysée enzymatiquement fait intervenir

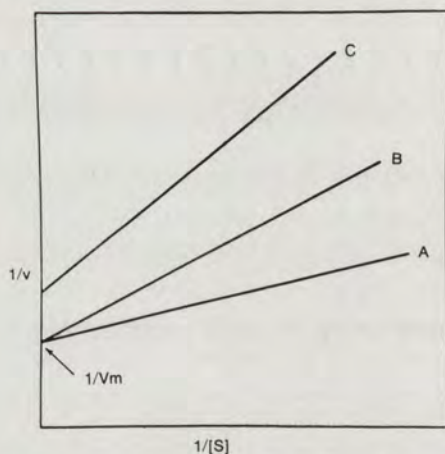


FIG. 7-8. Réciproque de la vitesse initiale en fonction de la réciproque de la concentration en substrat en l'absence (A) et en présence d'un inhibiteur (B et C).

B = inhibition compétitive

C = inhibition non compétitive.

plusieurs substrats, on peut à partir des principes développés ci-dessus, rechercher l'expression de la vitesse qui prend une forme plus compliquée que celle que nous avons établie pour le cas d'un seul substrat (voir par ex. Reiner).

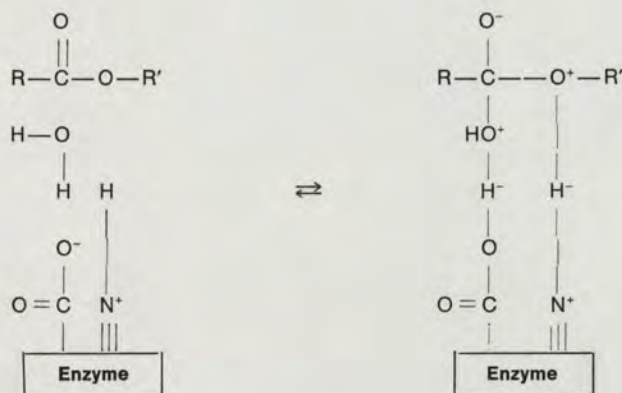
IV. MÉCANISME DE LA CATALYSE ENZYMATIQUE

A. RÔLE DES ENZYMES

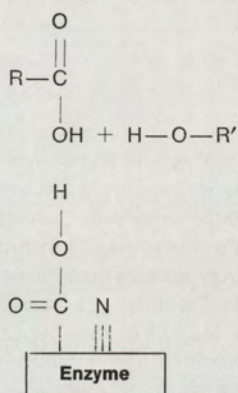
Les enzymes sont des catalyseurs extrêmement spécifiques, c'est-à-dire qu'à une réaction déterminée correspond un enzyme particulier. La spécificité ainsi observée peut être analysée en termes de complémentarité moléculaire, c'est-à-dire qu'à certaines fonctions chimiques du substrat doivent correspondre sur l'enzyme des fonctions complémentaires (principe de la clé et de la serrure de Fischer). La spécificité est donc obtenue en mettant en relation correcte les différents types de liaisons chimiques qui nous sont connus. Nous avons signalé dans un chapitre antérieur qu'il s'agissait de liaisons ioniques, de liaisons par covalence et de liaisons dites secondaires (forces de Van der Waals, etc.).

Parmi les enzymes identifiés, il y en a peu qui ne nécessitent pas la présence d'un activateur ou d'un coenzyme. Dans cette catégorie on trouve surtout les enzymes d'hydrolyse dont le mécanisme est peu connu. Barnard et Laidlaw ont par exemple tenté d'expliquer le mode d'action des hydrolases par un effet « bifonctionnel ». On peut discuter ce type de catalyse à propos des groupements aminés et des groupements carboxyles sans que cela implique que ces groupements soient nécessairement ceux qui entrent en jeu.

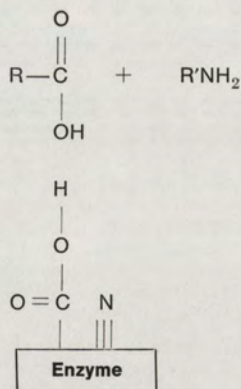
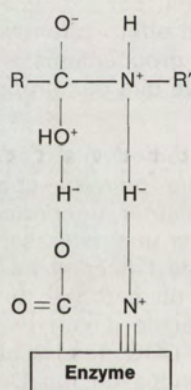
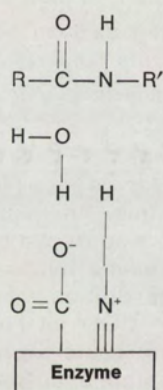
La macromolécule d'enzyme porte des groupements $-\text{NH}_3^+$ et $-\text{COO}^-$. Les premiers peuvent abandonner un proton, tandis que les seconds peuvent accepter un proton. On peut admettre que, lorsqu'un ester est hydrolysé par une estérase, le groupement $-\text{NH}_3^+$ s'approche de l'oxygène alcoolique de l'ester et lui donne un proton. En même temps, le $-\text{COO}^-$ s'approche du carbone du carbonyle. Sans doute doit-on admettre aussi qu'une molécule d'eau reste intercalée entre le $-\text{COO}^-$ et l'atome de C, et que le $-\text{COO}^-$ tend à attirer un proton de la molécule d'eau, en aidant en même temps un ion OH^- à s'approcher du carbone du carbonyle. Le schéma est le suivant :



Le complexe enzyme-substrat ainsi formé peut ensuite se scinder comme suit :



En ce qui concerne l'hydrolyse d'un peptide, le schéma serait le suivant :



Dans l'explication de l'action hydrolasique proposée plus haut, l'enzyme est considéré comme un conducteur d'électrons à travers lequel s'opère un flux modifiant la disposition des électrons, ce qui a pour conséquence une rupture de certaines liaisons.

Le mécanisme proposé relève de la conception selon laquelle une protéine est un semi-conducteur, dans lequel, comme dans un métal, certains électrons, les électrons π , ne sont pas strictement localisés en un point défini de la macromolécule, mais sont libres, jusqu'à un certain degré, de se mouvoir dans l'espace de cette macromolécule. L'élément fondamental de la structure d'une chaîne protéique, le groupement peptidique, est une unité résonnante possédant 4 électrons π (deux en provenance de la liaison $C=O$ et la paire libre de l'azote). Selon cette conception, les électrons π des groupements peptidiques ne restent pas localisés mais sont versés dans un « pool » macromoléculaire, dont les voies sont les liaisons hydrogènes entre les chaînes polypeptidiques. Un enzyme serait, dans cette conception, un semi-conducteur plus efficace qu'une protéine non enzymatique.

Bien que cette importante question de la nature de la semi-conductivité des protéines fasse encore l'objet de nombreuses discussions, sinon de controverses, un résultat dont la signification peut apporter un argument en faveur de l'hypothèse que nous venons d'examiner, a été mis en évidence par les calculs auxquels se sont livrés différents auteurs. Il est en effet apparu que l'association de peptides en polypeptides s'accompagne d'une diminution du potentiel d'ionisation et d'une augmentation de l'affinité électronique, ce qui correspond à un accroissement du pouvoir donneur et accepteur d'électrons d'un polypeptide par rapport à un monopeptide, et par le fait même de son pouvoir catalytique.

D'autres recherches ont été consacrées à l'étude des propriétés électroniques de certains acides aminés intervenant dans la structure des protéines jouant un rôle catalytique. Contrairement à l'hypothèse qui vient d'être développée, ces études ont abouti à une conception différente du mécanisme de la catalyse, mettant en jeu les seules caractéristiques électroniques locales des centres actifs de la protéine.

Dans le cas de l'acétylcholinestérase, les études très détaillées que Wilson a faites à ce sujet permettent d'illustrer très élégamment cette notion.

En voici l'essentiel. L'acétylcholine est une molécule simple dont les caractéristiques principales sont les suivantes :

1 charge positive sur l'azote

3 méthyles formant une structure tétraédrique avec l'azote qui les porte
1 carbone à fonction carbonyle de nature polaire telle que le carbone est positif et l'oxygène négatif.

C'est un carbone électrophile (accepteur d'électrons) qui, mis en présence d'une fonction nucléophile (donneur d'électrons) formera avec cette

dernière une liaison par covalence. Les sites actifs de l'enzyme doivent être complémentaires des différentes caractéristiques que nous venons d'énumérer.

L'étude détaillée du mécanisme d'hydrolyse de l'acétylcholine a permis à Wilson de présenter le schéma de la figure 7-9 concernant la nature des sites actifs de l'enzyme.

Correspondant à l'azote quaternaire du substrat, il y a sur l'enzyme un site anionique qui fixe le substrat sur l'enzyme par liaison électrostatique (forces de Coulomb). Les trois méthyles jouent également un rôle important dans cette fixation (forces de Van der Waals). Le site estérasique est caractérisé par la présence d'une fonction nucléophile G qui formera une liaison par covalence avec le carbone du groupe carbonyle du substrat. Il porte également une fonction acide qui ne joue aucun rôle dans la fixation du substrat sur l'enzyme, mais qui intervient de façon critique dans une étape ultérieure. Les facteurs qui viennent d'être examinés permettent donc de comprendre la formation du complexe et expliquent comment leur combi-

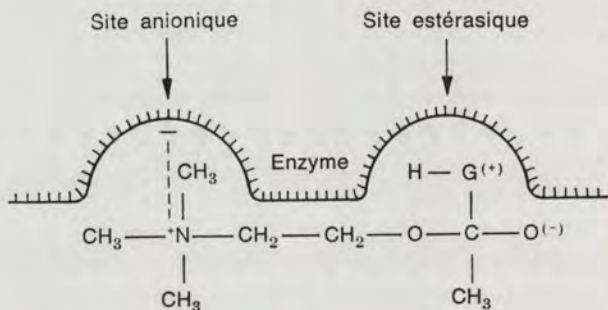
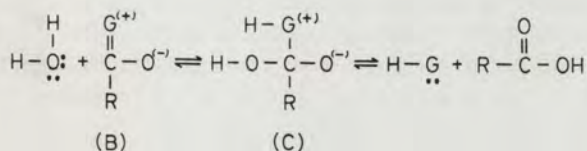
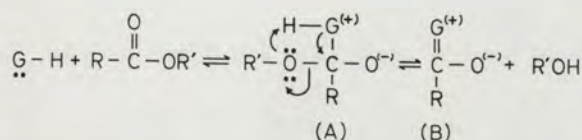


FIG. 7-9. Représentation schématique de l'interaction entre les sites actifs de l'acétylcholinestérase et de son substrat.

naison permet d'aboutir à la stabilisation du complexe et à l'orientation favorable du carbone du groupe carbonyle en face du site estérasique. C'est de cette orientation favorable que dépend l'étape ultérieure de la catalyse : l'hydrolyse de la liaison ester.

Ce mécanisme correspond à un processus qui s'accomplit en deux étapes : l'acylation de l'enzyme avec élimination d'une petite molécule, suivie de la désacylation de l'enzyme. Le mécanisme proposé postule que la structure symbolisée par G transmet des électrons de la même façon

qu'un système conjugué, ce qui conduit à envisager la séquence de réactions suivante :



(A) représente le complexe enzyme-substrat, (B) est la forme résonnante de l'enzyme acylé et (C) est un complexe enzyme-acide analogue au complexe enzyme-substrat. Le complexe (A) implique la formation d'un cycle où intervient la fonction acide du site estérasique. Un transfert d'électrons, selon le sens indiqué par les flèches, a pour résultat la libération d'un alcool (choline) et la formation de l'enzyme acétylé (B).

L'acyl-enzyme réagit alors avec l'eau en quelques microsecondes (complexe C) aboutissant à la régénération de l'enzyme et à la formation de l'acide acétique.

Le mécanisme décrit postule que l'enzyme devrait catalyser un échange d'oxygène entre l'eau et l'acide, ce qui a été confirmé par la technique des isotopes. D'autre part, l'utilisation de différents inhibiteurs a permis de confirmer la validité du schéma qui vient d'être exposé.

B. RÔLE DES COENZYMES

Mis à part les enzymes d'hydrolyse, la plupart des enzymes nécessitent pour leur fonctionnement un coenzyme qui est généralement une molécule organique plus ou moins complexe. Le mécanisme intime de la catalyse a alors son siège principal au niveau de ce coenzyme. Le rôle de la protéine, l'apoenzyme, consiste à assurer l'orientation du substrat, et détermine ainsi non seulement la grande efficacité de la réaction mais aussi en assure la spécificité. On a en effet identifié à ce jour environ 1000 enzymes alors qu'il n'y a guère qu'une vingtaine de coenzymes. Les coenzymes sont presque toujours formés de molécules organiques conjuguées et c'est dans ce domaine que la biochimie quantique a apporté jusqu'ici sa majeure contribution.

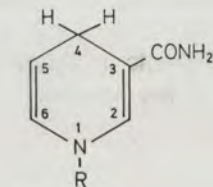
Dans l'étude des coenzymes, nous envisagerons successivement les coenzymes de transfert d'électrons (ou d'hydrogène) et les coenzymes de transfert de groupes.

1. Coenzymes de transfert d'électrons (ou d'hydrogène)

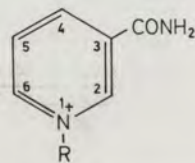
Nous avons signalé que les étapes de l'oxydation des métabolites constituent les réactions biochimiques essentielles aboutissant à la synthèse de composés à énergie chimique élevée. Dans ces réactions, il n'y a pas union directe du métabolite avec l'oxygène mais les électrons du substrat, par l'intermédiaire d'une série de transporteurs d'électrons (chaîne d'oxydo-réduction ou respiratoire), sont amenés à l'oxygène qui représente l'accepteur final.

Dans la chaîne respiratoire, chacun des transporteurs fonctionne alternativement comme un accepteur d'électrons par rapport au substrat ou au donneur d'électrons précédent puis comme un donneur d'électrons par rapport au transporteur suivant ou à l'accepteur final l'oxygène.

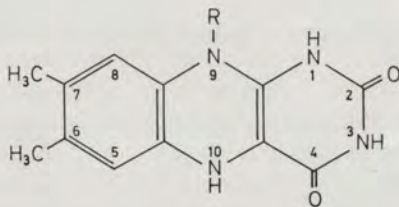
Nous avons déjà considéré la structure des nucléotides de pyridine (NAD et NADP) et des dérivés de la riboflavine (FMN et FAD), qui sont les principaux enzymes d'oxydo-réduction. Ce sont des molécules complexes mais la capacité qu'elles ont d'être alternativement réduites et oxydées n'intéresse directement que certains fragments de ces coenzymes : le résidu nicotinamide dans les nucléotides de pyridine et le noyau d'isoalloxazine dans les coenzymes flaviniques.



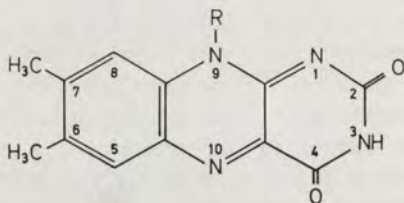
**NADH (+ H⁺)
ou
NADPH (+ H⁺)**



**NAD
ou
NADP**

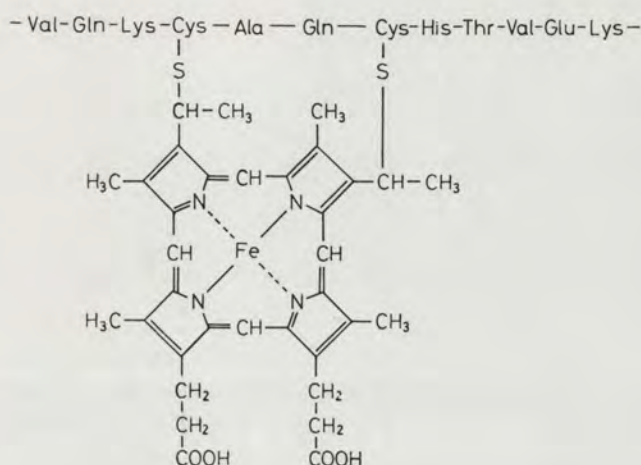


**FMNH₂
ou
FADH₂**



**FMN
ou
FAD**

Les ferro-porphyrines des cytochromes représentent d'autres coenzymes importants de la chaîne respiratoire. Les différents cytochromes se distinguent entre eux par la structure non seulement du groupement prosthétique, mais aussi de la protéine. Ils sont désignés par les lettres a, b, c affectées d'un indice numérique (a_1 , a_2 , etc.). Le mieux connu de ces cytochromes est le cytochrome c (cyt c) dont la structure du groupe porphyrine et son mode d'attachement à la protéine sont indiqués dans la formule rationnelle ci-dessous



La caractéristique principale des cytochromes est qu'ils transfèrent seulement des électrons à l'exclusion des ions hydrogène.

Les oxydations biologiques impliquent, comme nous l'avons déjà signalé, l'existence de systèmes qui nécessairement s'oxydent et se réduisent l'un et l'autre. Dans le chapitre 8 nous montrons que pour qu'un système A soit capable d'oxyder un système B, il faut que le potentiel d'oxydo-réduction standard E_0 de A soit plus positif que celui de B.

La distribution des transporteurs d'électrons dans la chaîne respiratoire, la possibilité pour un substrat d'oxyder un coenzyme, ou pour un coenzyme d'oxyder un autre substrat, dépendra des valeurs relatives des différents potentiels d'oxydo-réduction standards. Il est donc important de considérer ces valeurs qui sont données dans le tableau (8-2) du chapitre 8.

En ce qui concerne l'aspect électronique de ces réactions, nous avons déjà eu l'occasion de mentionner la relation entre les pouvoirs donneur et accepteur d'électrons des molécules, et les énergies de leurs plus hautes orbitales occupées (*phoo*) et de leurs plus basses orbitales libres (*pboi*).

Appliquée au cas des coenzymes d'oxydo-réduction, la méthode conduit aux résultats qui sont résumés dans le tableau 7-2.

Tableau 7-2

ÉNERGIE DES ORBITALES MOLÉCULAIRES DES COENZYMES D'OXYDORÉDUCTION (UNITÉS β)
(d'après Pullman et Pullman, 1963)

coenzyme	phoo	pboi
NAD	1.032	— 0.356
NADH (H^+)	0.298	— 0.915
FMN	0.496	— 0.343
FMNH ₂	— 0.105	— 0.949

On peut voir que dans le cas du NAD et du FMN la *pboi* est située relativement bas ce qui signifie que ces molécules possèdent une affinité électronique élevée. Par conséquent, ces formes oxydées des coenzymes sont d'excellents accepteurs d'électrons. Leurs *phoo* sont situées également bas ce qui signifie que ces formes moléculaires sont d'assez pauvres donneurs d'électrons. La situation inverse s'observe en ce qui concerne les formes réduites des coenzymes.

Si on considère les couples NAD-NADH (H^+) et FMN-FMNH₂, l'oxydo-réduction s'accompagne d'une redistribution instantanée des orbitales moléculaires, en particulier de celles de la *phoo* et de la *pboi*, de telle sorte qu'un niveau bas de la *pboi* est associé avec la forme oxydée et un niveau élevé de la *phoo* est associé avec la forme réduite. La forme oxydée a donc tendance à accepter des électrons et la forme réduite à en donner. Il est intéressant de signaler que dans le cas de FMNH₂, sa *phoo* est une orbitale antiliante dont le signe négatif est associé avec les orbitales qui ne sont occupées que dans l'état activé. L'occupation de cette orbitale dans l'état fondamental de la molécule représente donc une configuration très instable ce qui explique la tendance que possède cette molécule à expulser les électrons localisés sur cette orbitale. Ceci explique non seulement le pouvoir donneur d'électrons qui est élevé au niveau de cette molécule, mais aussi le fait qu'il s'agit d'une molécule autooxydable, à la différence de NADH (H^+) qui nécessite un système à potentiel plus élevé pour sa réoxydation. Cet aspect du problème sera examiné en détail lorsque nous considérerons le fonctionnement de la chaîne respiratoire.

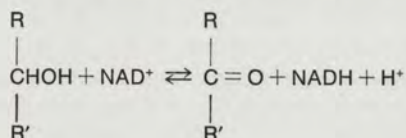
Signalons enfin que le fonctionnement des cytochromes s'apparente au mécanisme qui vient d'être décrit.

a) *Réactions catalysées par les coenzymes pyridiniques*

Le NAD et le NADP sont associés à des déshydrogénases qui catalysent des réactions essentiellement identiques. Toutes ces réactions sont réversibles mais la position de l'équilibre dépendra non seulement de la différence existant entre les potentiels d'oxydo-réduction standards mais aussi des concentrations relatives des réactifs et des produits mis en jeu.

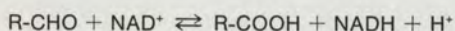
Les principales réactions catalysées par ces enzymes sont de trois types :

i) *transformation d'un alcool primaire ou secondaire en cétone*

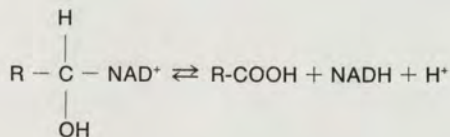


Parmi les enzymes appartenant à ce groupe, mentionnons les déshydrogénases alcooliques, les déshydrogénases de l'acide L-lactique et de l'acide L-malique, la déshydrogénase du glucose, etc.

ii) *transformation d'un aldéhyde en acide carboxylique*



ou plus exactement

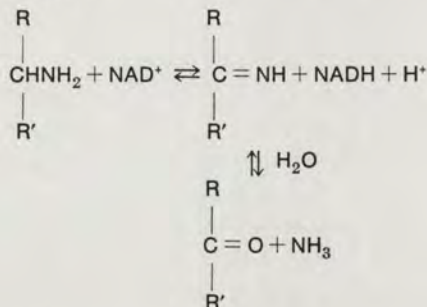


puisque l'aldéhyde existe probablement sous forme hydratée. Les déshydrogénases de l'acétaldéhyde et du 3-phosphoglyceraldéhyde appartiennent à ce groupe.

iii) *transformation d'une amine en cétone*

ou plus exactement la première étape de cette transformation, qui résulte dans la formation d'une imine.

La déshydrogénase de l'acide-L-glutamique est le représentant le plus important de la catégorie.



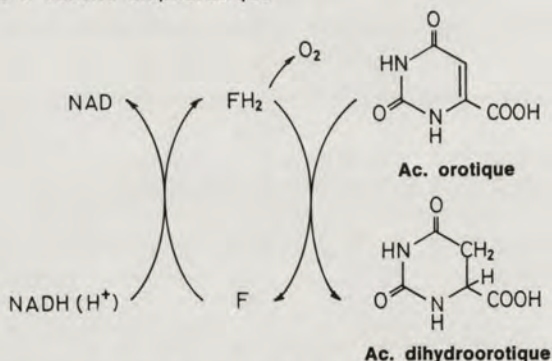
b) Réactions catalysées par les flavoprotéines

Les flavoprotéines peuvent être divisées en deux groupes fondamentaux selon la nature des substrats impliqués dans la réaction.

i) flavoprotéines sans activité diaphorase

Dans cette catégorie, on classe les enzymes qui n'acceptent pas le NAD ou le NADP comme substrats. Il s'agit d'enzymes de la série des oxydases, qui sont capables de transférer l'hydrogène d'un substrat organique sur l'oxygène. Parmi les substrats, on trouve des alcools qui sont transformés en acides (par exemple glucose oxydase) et des amines qui sont transformées en cétones (glycocolle oxydase). On trouve également des flavoprotéines à caractère déshydrogénasique capables d'accepter l'hydrogène provenant de différents substrats mais n'opérant pas le transfert sur l'oxygène. Ces enzymes nécessitent des intermédiaires (cytochromes) et se distinguent par leur capacité à réduire de nombreux colorants synthétiques. Parmi les substrats de cette classe on trouve des alcools qui sont transformés en cétones (déshydrogénase de l' α -glycérophosphate) et des substances à liaisons $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ saturées qui sont alors déshydrogénées en liaisons éthyléniques $-\text{CH}=\text{CH}-$ (déshydrogénases de l'acide succinique et du complexe acylé acide gras-CoA).

ii) flavoprotéines à activité diaphorase



Ces enzymes sont réduits par le NADH (H⁺) et le NADPH (H⁺). On distingue les enzymes dont l'activité ne s'exerce que sur un type de substrat

ou sur plusieurs types de substrats. Dans la première catégorie, on trouve la diaphorase de Straub et diverses réductases des nucléotides de pyridine (oxydases et peroxydases) qui sont des flavoprotéines capables d'oxyder le NADPH (H^+) ou le NADH (H^+) en transférant l'hydrogène sur les cytochromes, l'oxygène ou le peroxyde d'hydrogène.

Dans la deuxième catégorie, on classe des catalyseurs à activité complexe, qui peut être illustrée par le rôle de la déshydrogénase de l'acide dihydroorotique.

c) Réactions catalysées par les cytochromes

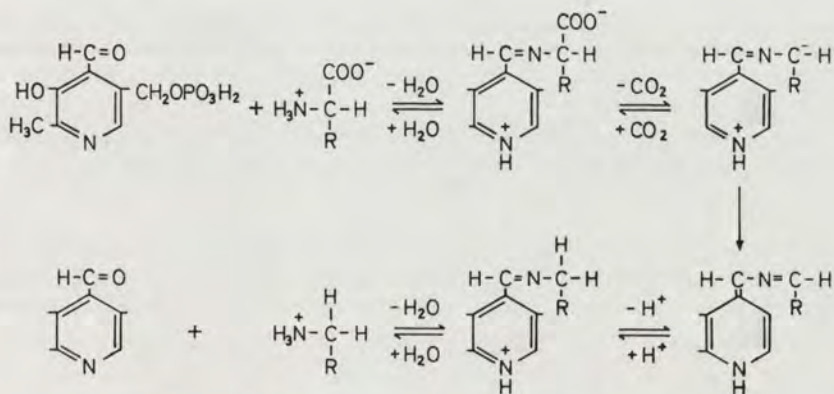
On ne possède pas actuellement d'interprétation concernant le détail du fonctionnement des cytochromes dans la chaîne respiratoire. Les aspects connus seront examinés dans un autre chapitre (chapitre 12). Rappelons simplement qu'ils constituent les principaux intermédiaires placés dans la chaîne respiratoire entre la forme réduite des flavoprotéines et l'oxygène moléculaire.

2. Les coenzymes de transfert de groupes

Il s'agit de coenzymes jouant un rôle primordial dans les transformations métaboliques, tant de synthèse que de dégradation, par le fait qu'ils catalysent les réactions mettant en jeu des transferts de groupes.

a) Phosphate de pyridoxal

Le rôle du pyridoxal phosphate comme coenzyme de la décarboxylation des acides aminés peut, selon Mandele, Koppelman et Hanke (1954) s'expliquer selon le schéma suivant :



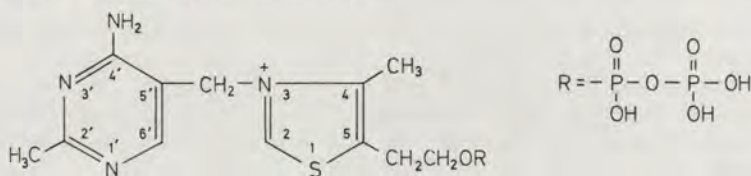
Une autre réaction typique est la transamination dans laquelle le phosphate de pyridoxal catalyse la transformation d'un acide α -aminé en un acide α -cétonique. Le mécanisme de cette réaction est en principe analogue à celui décrit plus haut. Il comporte également comme étape essentielle la formation d'une base de Schiff (une imine), par condensation de la fonction amine de l'acide α -aminé avec la fonction aldéhyde du coenzyme. Il y a ensuite formation d'une base de Schiff transitionnelle, constituant un système conjugué plus grand que celui de la base de Schiff initiale, ce qui se traduit par un gain d'énergie de résonance. C'est ce gain qui constitue

la cause principale de l'activation des acides α -aminés dans les réactions catalysées par le phosphate de pyridoxal.

b) *Pyrophosphate de thiamine*

C'est un coenzyme fondamental pour les réactions mettant en jeu les acides α -cétoniques ; il catalyse la décarboxylation oxydative de ces acides.

A l'échelle électronique, l'action catalytique de la thiamine s'explique d'une manière analogue à celle mise en évidence dans le cas des réactions catalysées par le pyridoxalphosphate.



Pyrophosphate de thiamine

c) *Acide folique*

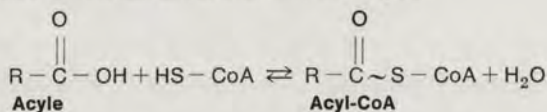
L'acide folique est une molécule complexe dont les dérivés polyglutamiques représentent une classe importante de vitamines B. Ils sont transformés enzymatiquement en homologues 5, 6, 7, 8-tétrahydro qui représentent les coenzymes dérivés des vitamines.

L'acide 5, 6, 7, 8-tétrahydrofolique, dérivé monoglutamique, en connexion avec une catégorie d'enzymes, les ptéroprotéines, est un coenzyme essentiel pour le métabolisme des unités à un carbone (C_1), tel le groupe CHO ou CH=NH. Son importance métabolique est très grande, puisque c'est à partir de ces unités que sont construites *in vivo* les molécules complexes, comme par exemple les purines. Les facteurs électroniques responsables du transfert d'une unité C_1 d'un porteur à un accepteur relèvent de la distribution électronique des fragments moléculaires impliqués dans la réaction.

L'aptitude à céder l'unité C_1 doit être mise en relation avec la bipositivité (déficiency électronique) de la liaison qui doit être rompue.

d) *Coenzyme A (CoA)*

Un autre coenzyme dont l'action est clairement élucidée est le coenzyme A, coenzyme des transferts d'acétyles par son groupement sulfhydryle capable d'être alternativement acétylé et désacétylé tout comme le NAD peut être alternativement réduit et oxydé



C'est l'existence d'une charge positive nette sur le carbone du groupe carbonyle et d'une charge négative nette sur le carbone du groupe méthyle qui détermine les deux principaux types de réaction auxquels l'acétyl-CoA participe : l'acétylation et la condensation.

Un exemple illustrant l'intervention de l'acétyl-CoA dans une réaction d'acylation est donné par la synthèse de l'acétylcholine (Chap. 8) alors que le transfert du résidu acétique de l'acétyl-CoA sur l'acide oxaloacétique

pour donner de l'acide citrique démontre le rôle du CoA dans une réaction de condensation. Ce dernier exemple est particulièrement important puisqu'il constitue le départ d'un cycle métabolique connu sous le nom de cycle de Krebs (ou de l'acide citrique, ou des acides tricarboxyliques) dont le rôle majeur dans l'économie de la cellule sera démontré ultérieurement (Chap. 12).

Les quelques exemples qui précèdent donnent une idée de la variété de mécanisme des actions coenzymatiques, conjuguées à l'activation par la macromolécule enzymatique elle-même, activation dont le mécanisme est l'un des problèmes les plus importants parmi ceux que se pose la biochimie moderne.

V. CLASSIFICATION ET NOMENCLATURE DES ENZYMES

A. RÈGLES GÉNÉRALES DE CLASSIFICATION

Le développement rapide de l'enzymologie et l'augmentation progressive du nombre d'enzymes connus créent de nombreux problèmes de terminologie et de classification. Jusqu'à ces dernières années, l'attribution d'un nom à un enzyme nouveau se faisait selon une pratique couramment admise et qui consiste à ajouter euphoniquement le suffixe -ase au nom du substrat. Ainsi l'enzyme catalysant la réaction impliquant l'urée comme substrat est l'uréase, celui faisant intervenir l'arginine est l'arginase et ainsi de suite. Une autre méthode généralement utilisée consistait à nommer les enzymes selon la nature de la réaction chimique catalysée (racémases, oxydases, etc.). Enfin à côté de cette nomenclature persistaient des dénominations anciennes telles que trypsine, pepsine, etc.

Il est aisé de comprendre pourquoi en l'absence de règles strictes, la situation est devenue très rapidement confuse au point qu'un même enzyme ait été connu sous des noms différents et que le même nom ait été appliqué à des enzymes différents. Dans le but d'éclaircir ce problème, une commission internationale (la Commission des Enzymes de l'Union Internationale de Biochimie) a mis au point un système de classification et une nomenclature précise dont l'usage, depuis son entrée en vigueur en 1961, s'est largement répandu. Dans la nomenclature qui a été suggérée, un enzyme comporte un numéro d'ordre, un nom systématique et un nom commun recommandé. Les auteurs restent libres d'utiliser les noms communs de leur choix, mais il est suggéré qu'au début de leurs travaux ils mentionnent le nom systématique de l'enzyme étudié. ⁽¹⁾

a) Le numéro d'ordre comprend quatre chiffres séparés par des points. Le premier chiffre indique, parmi les six catégories définies, celle à laquelle appartient l'enzyme en question. Les six catégories sont :

- | | |
|------------------------|-------------------------------|
| 1. les oxydoréductases | 4. les lyases |
| 2. les transférases | 5. les isomérases |
| 3. les hydrolases | 6. les ligases (synthétases). |

⁽¹⁾ Nous utilisons, dans le présent ouvrage, l'abréviation E. N. suivie du numéro d'ordre, pour nous référer au livre « Enzyme Nomenclature » (1964). Ce dernier a été précédé par la publication d'un rapport de la Commission des Enzymes (Report of the Enzyme Commission, 1961) ; lorsqu'on s'y réfère, il nous paraît préférable d'employer l'abréviation E. C.

b) Le deuxième chiffre représente la sous-classe. Il indique pour les oxydoréductases la nature du groupe du donneur qui est l'objet de l'oxydation ; pour les transférases la nature du groupe transféré ; pour les hydrolases la nature de la liaison qui est hydrolysée ; pour les lyases le type de liaison qui est brisée ; pour les isomérases la nature de l'isomérisation et pour les ligases la nature de la liaison qui est formée.

c) Le troisième chiffre indique la sous-sous-classe. Il s'agit dans le cas des oxydoréductases du type d'accepteur correspondant aux différents donneurs. Pour les transférases, il représente une subdivision des groupes transférés. Il précise dans le cas des hydrolases, la nature de la liaison hydrolysée ; dans celui des lyases, la nature du groupe déplacé ; dans le cas des isomérases, la nature de la transformation et pour les ligases, la nature de la substance formée.

d) Le dernier chiffre représente le numéro d'ordre de l'enzyme dans la sous-sous-classe considérée.

Par exemple l'enzyme portant le numéro d'ordre 2.6.1.4 s'appelle la glyocolle: α -cétoglutarate aminotransférase (nom systématique), encore appelé glyocolle aminotransférase (nom commun recommandé). Ce numéro indique qu'il s'agit d'une transférase (2) appartenant à la sous-classe des enzymes catalysant le transfert d'un groupe contenant de l'azote (6) et plus particulièrement d'un azote aminé (1). Il est le quatrième (4) de la sous-sous-classe 1. L'enzyme portant le numéro 2.7.1.1 est l'ATP : D-hexose 6-phosphotransférase (nom systématique) encore appelé hexokinase (nom commun). Il s'agit d'une transférase (2) catalysant le transfert d'un groupe contenant du phosphore (7) sur une fonction alcoolique (1). Il est le premier (1) de la sous-sous-classe 1.

Cette classification repose sur la connaissance détaillée du mécanisme de la réaction catalysée. Quant à la nomenclature, elle permet à la seule lecture du nom systématique de connaître avec précision le type de réaction faisant l'objet de la catalyse enzymatique. Les exemples ci-dessous illustrent ces différents points.

B. QUELQUES EXEMPLES DE LA LISTE DES ENZYMES

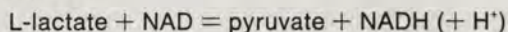
1. Les oxydoréductases

Il s'agit d'enzymes transférant des électrons accompagnés de protons, ou des électrons seuls, d'un donneur à un accepteur. La classification repose d'une part sur la nature chimique du groupe donneur (sous-classe) et d'autre part sur la nature de l'accepteur (sous-sous-classe) qui peut être l'oxygène ou une autre molécule.

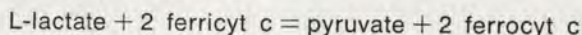
Le donneur peut être le groupe CH—OH (sous-classe 1), CH—CH (sous-classe 3), CH—NH₂ (sous-classe 4), etc., et l'accepteur outre l'oxygène (sous-sous-classe 3), le NAD ou le NADP (sous-sous-classe 1), un cytochrome (sous-sous-classe 2), le lipoate (sous-sous-classe 4), etc.

Voici quelques exemples :

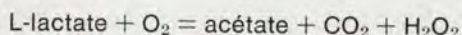
1.1.1.27 L-lactate : NAD oxydoréductase (déshydrogénase du lactate) qui catalyse la réaction



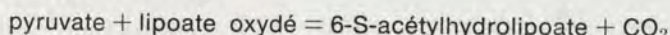
- 1.1.2.3 L-lactate : cytochrome c oxydoréductase (déshydrogénase du lactate) qui catalyse la réaction



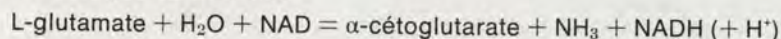
- 1.1.3.2. L-lactate : oxygène oxydoréductase (oxydase du lactate), qui catalyse la réaction



- 1.2.4.1 pyruvate : lipoate oxydoréductase (déshydrogénase du pyruvate), qui catalyse la réaction



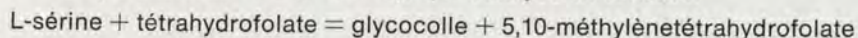
- 1.4.1.2 L-glutamate : NAD oxydoréductase (déshydrogénase du L-glutamate) qui catalyse la réaction



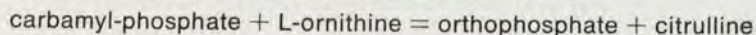
2. Les transférases

Il existe de nombreux enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe d'une molécule à une autre molécule. La nature du groupe sur lequel l'activité de l'enzyme s'exerce, est très variable puisqu'il peut s'agir d'une unité à un carbone (sous-classe) : méthyle, hydroxyméthyle, carboxyle, amidino, etc. (sous-sous-classe), d'un résidu aldéhydique ou cétonique, d'un radical acyle, aminocyle, alkyle, ou glycosyle, d'un groupe contenant de l'azote, du phosphore ou du soufre. Les exemples suivants illustrent les principaux types de réactions catalysées par les transférases.

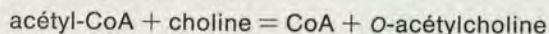
- 2.1.2.1 L-sérine : tétrahydrofolate 5,10-hydroxy-méthyltransférase (hydroxyméthyltransférase de la sérine), qui catalyse la réaction



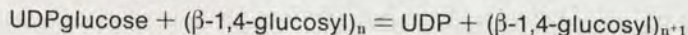
- 2.1.3.3 carbamyl-phosphate : L-ornithine carbamyltransférase (carbamyltransférase de l'ornithine), qui catalyse la réaction



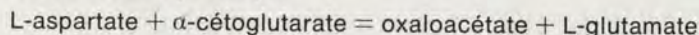
- 2.3.1.6 acétyl-CoA : choline O-acétyltransférase (acétyltransférase de la choline), qui catalyse la réaction



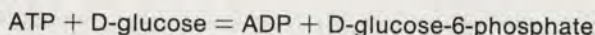
- 2.4.1.12 UDPglucose : β -1,4-glucan β -4-glucosyltransférase (glucosyltransférase de l'UDPglucose-cellulose), qui catalyse la synthèse de cellulose à partir d'UDPglucose :



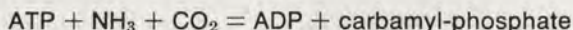
- 2.6.1.1 L-aspartate : α -cétoglutarate aminotransférase (aminotransférase de l'aspartate), qui catalyse le transfert de la fonction amine de l'aspartate sur l'acide α -cétoglutarique



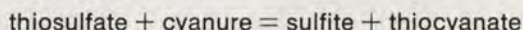
- 2.7.1.2 ATP : D-glucose 6-phosphotransférase (glucokinase), qui catalyse la réaction



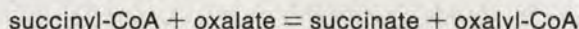
- 2.7.2.2 ATP : carbamate phosphotransférase (kinase du carbamate), qui catalyse la réaction



- 2.8.1.1 thiosulfate : cyanure sulfurtransférase (sulfurtransférase du thiosulfate), qui catalyse la réaction



- 2.8.3.2 succinyl-CoA : oxalate CoA-transférase (transférase de l'oxalyl-CoA), qui catalyse la réaction

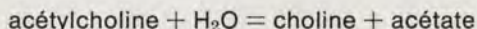


3. Les hydrolases

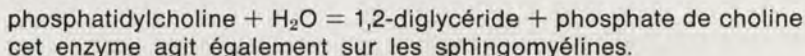
Les enzymes hydrolytiques agissent en catalysant l'introduction des éléments de l'eau au niveau d'une liaison spécifique du substrat. Il s'agit de réactions qui sont très souvent réversibles. Les liaisons qui peuvent faire l'objet d'une hydrolyse enzymatique comprennent les liaisons ester (sous-classe), éther et peptidique. En outre, les liaisons C-N (autre que peptidique), C-C et P-N ainsi que les composés glucosylés, la fonction anhydride et les halogénures, sont également hydrolysés enzymatiquement.

En voici quelques exemples.

- 3.1.1.7 acétylcholine hydrolase (acétylcholinestérase), qui catalyse la réaction



- 3.1.4.3 phosphatidylcholine cholinephosphohydrolase (phospholipase C), qui catalyse la réaction



- 3.2.1.1 α -1,4-glucan 4-glucanohydrolase (α -amylase).

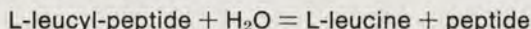
Cet enzyme hydrolyse l'amidon, le glycogène et d'autres polysaccharides qui contiennent au moins trois unités glucose réunies en α -1,4.

- 3.2.1.35 hyaluronate glucanohydrolase (hyaluronidase).

L'hydrolyse porte sur la liaison située entre les résidus 2-acétamido-2-déoxy-D-glucose et D-glucuronate de l'hyaluronate. Il agit également sur les sulfates de chondroïtine et de mucoïtine.

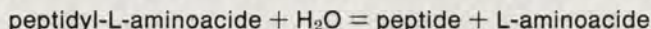
- 3.4.1.1 L-leucyl-peptide hydrolase (aminopeptidase de la leucine).

Cet enzyme hydrolyse de nombreux L-peptides portant en position terminale un résidu avec un groupe aminé libre qui n'est pas nécessairement celui de la leucine



- 3.4.2.1 peptidyl-L-aminoacide hydrolase (carboxypeptidase A).

Cet enzyme agit sur de nombreux peptides à l'exclusion de ceux dont le C terminal appartient à un acide aminé basique ou à la proline



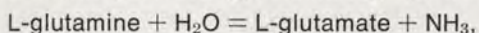
3.4.4.1 pepsine.

Cet enzyme a pour précurseur le pepsinogène. Il hydrolyse les peptides y compris ceux dont les liaisons sont adjacentes à des résidus aromatiques ou dicarboxyliques.

3.4.4.15 rénine.

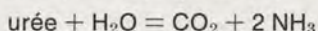
Cet enzyme transforme, par hydrolyse, l'hypertensinogène en hypertensine.

3.5.1.2 L-glutamine amidohydrolase (glutaminase), qui catalyse la réaction

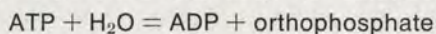


une des sources principales de l'ammoniaque urinaire.

3.5.1.5 urée amidohydrolase (uréase), qui catalyse la réaction

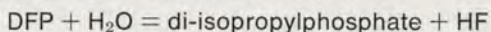


3.6.1.5 ATP diphosphohydrolase (apyrase), qui catalyse la réaction



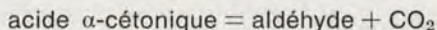
3.8.2.1 di-isopropylphosphorofluoridate fluorohydrolase (DFPase).

Cet enzyme hydrolyse les dérivés organophosphorés, dont certains sont utilisés comme insecticide ou comme gaz de combat. Dans le cas du di-isopropylphosphorofluoridate (DFP) on a

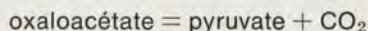


4. Les lyases

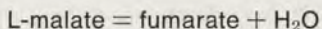
Les lyases sont des enzymes qui catalysent le déplacement d'un groupe à partir d'un substrat avec pour résultat la création sur le substrat d'une double liaison. La double liaison ainsi formée s'établira selon le cas entre un atome de carbone et un autre atome de carbone (sous-classe), ou entre un atome de carbone et un atome d'oxygène, d'azote, de soufre ou d'halogène. Voici quelques exemples :

4.1.1.1 acide α -cétonique carboxy-lyase (décarboxylase du pyruvate), qui catalyse la réaction

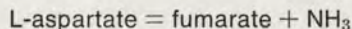
4.1.1.3 oxaloacétate carboxy-lyase (décarboxylase de l'oxaloacétate), qui catalyse la réaction



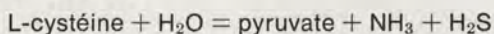
4.2.1.2 L-malate hydro-lyase (hydratase du fumarate), qui catalyse la réaction



4.3.1.1 L-aspartate ammonia-lyase (ammonia-lyase de l'aspartate), qui catalyse la réaction



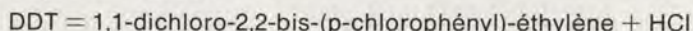
4.4.1.1 L-cystéine sulfure d'hydrogène-lyase (désulfhydrase de la cystéine), qui catalyse la réaction



4.5.1.1 1,1,1-trichloro-2,2-bis-(p-chlorophényl) - éthane acide chlorhydrique-lyase (déhydrochlorinase du DDT).

Cet enzyme inactive le DDT et est responsable de la résistance de certains insectes aux pulvérisations d'insecticides à base de ce produit.

Il catalyse la réaction



5. Les isomérases

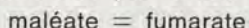
Le terme isomérase est utilisé pour désigner les enzymes qui catalysent des réarrangements intramoléculaires. Il s'agit de modifications structurelles aboutissant à la transformation d'une forme L en forme D, ou d'une forme *cis* en forme *trans* (sous-classe). Le résultat de l'activité des enzymes appartenant à cette classe se traduit également par la conversion, suite à une oxydo-réduction intramoléculaire, d'un aldéhyde en cétone, ou d'une cétone en la forme énol. L'activité des isomérases porte également sur des transferts de groupes (acyle ou phosphoryle par exemple) d'un point à l'autre de la molécule. Enfin, le déplacement d'un groupe au sein de la molécule, peut aboutir à la formation d'une double liaison, comme dans le cas des lyases.

5.1.1.1 alanine racémase (racémase de l'alanine),

qui catalyse la transformation de la L-alanine en D-alanine

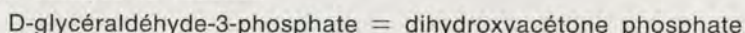
qui catalyse la réaction

5.2.1.1 maléate *cis-trans*- isomérase (isomérase du maléate),



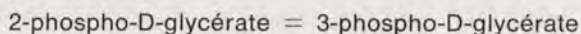
5.3.1.1 D-glycéraldéhyde-3-phosphate céto-isomérase (isomérase du triose-phosphate),

qui catalyse la réaction



5.4.2.1 D-phosphoglycérate 2,3-phosphomutase (phosphomutase du phosphoglycérate),

qui catalyse la réaction

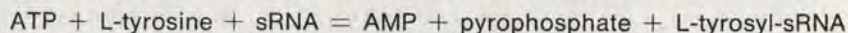


6. Les ligases

Les ligases catalysent des réactions de synthèse en utilisant l'ATP comme source d'énergie. La réaction s'accompagne de la formation d'une liaison entre un atome de carbone et un atome d'oxygène, de soufre, d'azote ou d'un autre atome de carbone.

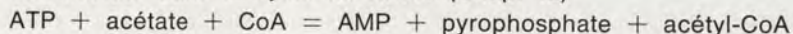
6.1.1.1 L-tyrosine : sRNA ligase (AMP) (synthétase du tyrosyl-sRNA)

qui catalyse la formation d'une liaison C-O dans la réaction



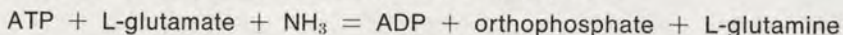
6.2.1.1 acétate : CoA ligase (AMP) (synthétase de l'acétyl-CoA),

qui catalyse la formation d'une liaison C-S avec pour résultat l'« activation » de l'acétate, étape importante conduisant notamment à l'entrée de l'acétate dans le cycle de Krebs (Chap. 12)



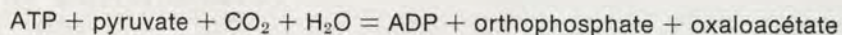
6.3.1.2 L-glutamate : ammonia ligase (ADP) (synthétase de la glutamine).

Cet enzyme joue un rôle important dans le métabolisme de l'azote et catalyse la réaction de synthèse de la glutamine à partir de glutamate et de NH_3 avec formation d'une liaison C-N



6.4.1.1 pyruvate : anhydride carbonique ligase (ADP) (carboxylase du pyruvate),

qui catalyse la réaction



A CONSULTER

ACKERMAN, E., Biophysical science. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1962.

HENRI, V., Lois de l'action des diastases. Hermann, Paris, 1903.

LAIDLER, K. J., The chemical kinetics of enzyme action. Clarendon Press, Oxford, 1958.

MANDELES, S., KOPPELMAN, R. et HANKE, M. E., J. Biol. Chem., 1954, **209**, 327.

MICHAELIS, L. et DAVIDSOHN, H., Bioch. Zeitsch., 1911, **35**, 386 ; 1911, **36**, 280.

MYRBÄCK, K., Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1926, **158**, 160.

PULLMAN, A. et PULLMAN, B., π Molecular orbitals and the processes of life, in P.-O. Lowdin et B. Pullman : Molecular orbitals in chemistry, physics and biology. Academic Press, New York, 1964.

PULLMAN B., La biochimie électronique. Presses Univ. de France, Paris, 1963.

PULLMAN, B. et PULLMAN, A., Quantum biochemistry. Interscience Publishers, New York, 1963.

REINER, J. M., Behavior of enzyme systems. Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1959.

WALEY, S. G., Mechanisms of organic and enzymic reactions. Clarendon Press, Oxford, 1958.

Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 11 (1963), 12, 13, 2^e édit. (1964) (ce livre « Enzyme Nomenclature » a été également publié dans une édition brochée par Elsevier en 1965), 15 (1964), 16 (1965). Elsevier Publishing Co., Amsterdam.

Traité de biochimie générale (Publié sous la direction de M. Javillier, M. Polonovski, M. Florkin, P. Boulanger, M. Lemoigne, J. Roche et R. Wurmser). Vol. 2, Fasc. 1 et 2. Masson, Paris, 1962, 1964.

CHAPITRE 8

Source d'énergie libre cellulaire : le potentiel de groupe et les phénomènes d'oxydo-réduction

I. Les oxydo-réductions	188
A. Généralisation du terme oxydation	188
B. Cas des molécules organiques	189
C. Les radicaux libres	190
II. Aspects quantitatifs des réactions d'oxydo-réduction	191
A. La force électromotrice des éléments	191
B. Le potentiel d'oxydo-réduction des systèmes moléculaires d'importance biologique	192
C. Les relations énergétiques dans les systèmes d'oxydo-réduction	196
III. Le potentiel de groupe	198
A. Rôle des phosphates à potentiel énergétique élevé	198
B. Classification des phosphates à potentiel énergétique élevé	201
1. Les phosphates de guanidine	201
2. Les acyl-phosphates	201
3. Les énoI-phosphates	202

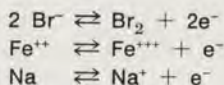
C. Autres composés à potentiel énergétique élevé	205
1. Les acyl-thioesters	205
2. Les acyl-imidazoles	206
3. Les composés onium	206
a) Les dérivés sulfonium	206
b) Les dérivés aliphatiques de l'ammonium quaternaire	206
c) Les dérivés onium hétérocycliques	206
IV. Le concept de couplage d'énergie	
« Liaison riche » et potentiel de groupe	207

I. LES OXYDO-RÉDUCTIONS

A. GÉNÉRALISATION DU TERME OXYDATION

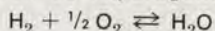
Dans une cellule vivante, les phénomènes d'oxydation servent essentiellement à fournir l'énergie nécessaire aux réactions endergoniques et à transformer les aliments en matériaux cellulaires. Bien qu'à l'origine l'oxydation ait été considérée comme le résultat de la combinaison d'un élément ou d'une molécule avec l'oxygène, on peut démontrer que tous les phénomènes d'oxydation sont caractérisés par un transfert d'électrons. L'oxydation est une désélectronation et le phénomène inverse, la réduction, est une électronation. Toute oxydation est obligatoirement associée à une réduction. On pourrait supposer qu'en disposant d'un condensateur électrique d'où l'on sortirait des électrons ou dans lequel on pourrait les y accumuler, la réduction ou l'oxydation d'une substance pourrait s'effectuer sans qu'il y ait simultanément oxydation ou réduction d'une autre substance. On ne dispose pas d'un tel réservoir d'électrons et le plus grand condensateur électrique connu, chargé à son potentiel maximum, renferme si peu d'électrons, qu'il ne pourrait servir à effectuer qu'une très faible partie d'une réaction chimique. Par conséquent, dans toute réaction d'oxydation, il apparaît un processus équivalent de réduction.

Chaque réaction de transfert d'électrons met en jeu un oxydant et un réducteur : c'est pourquoi on parle de paire d'oxydation-réduction ou de couple oxydo-réducteur.



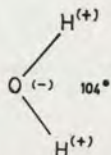
Br_2 , Fe^{+++} et Na^+ sont des agents oxydants alors que Br^- , Fe^{++} et Na sont des agents réducteurs.

Dans le cas de l'oxydation de l'hydrogène



il peut être moins clair qu'une oxydation est synonyme de perte d'électrons.

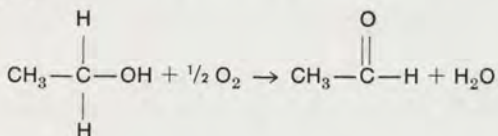
Dans ce cas la liaison O—H est en effet covalente, c'est-à-dire qu'une paire d'électrons est mise en commun entre les atomes d'oxygène et d'hydrogène. Cependant, comme la paire d'électrons est plus proche du noyau de l'oxygène que de celui de l'hydrogène, on peut dire que l'hydrogène est oxydé puisqu'il a partiellement perdu un électron alors que l'oxygène est réduit puisqu'il a gagné, partiellement tout au moins, deux électrons.



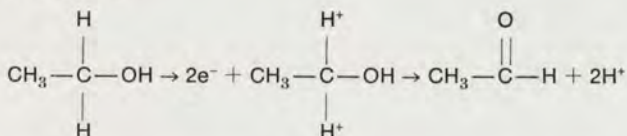
Que l'oxydation de l'hydrogène par l'oxygène constitue un transfert d'électrons est bien démontré par la polarité de l'eau et son hydrolyse sous l'influence d'un courant électrique.

B. CAS DES MOLÉCULES ORGANIQUES

La situation est plus complexe dans le cas des molécules organiques pour lesquelles une oxydation est généralement synonyme de déshydrogénation. Prenons par exemple le cas de l'oxydation de l'éthanol en acétaldéhyde :

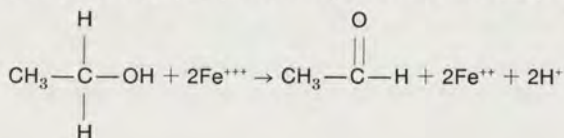


On peut aussi écrire



c'est-à-dire, que dans une première étape, il y a perte de deux électrons puis dissociation de deux protons, comme dans le cas d'un acide.

On pourrait remplacer l'oxygène par un oxydant ne pouvant accepter qu'un électron, l'ion ferrique par exemple. Dans ce cas, on devrait avoir :

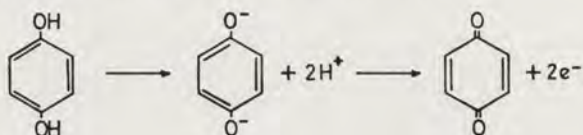


Ceci impliquerait toutefois une collision ternaire (2 Fe, 1 éthanol) dont l'improbabilité est telle qu'on ne peut la considérer en pratique. Ce mécanisme est donc inadéquat et la considération de l'exemple ci-dessus nous

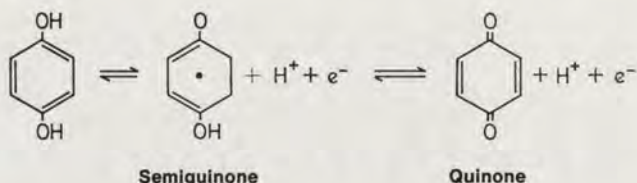
permet de conclure que dans le cas d'un oxydant ne pouvant accepter qu'un électron, situation généralement rencontrée dans le cas des oxydants biochimiques, le transfert de deux électrons ne peut se faire que par étapes simples n'impliquant qu'un électron.

C. LES RADICAUX LIBRES

Considérons l'oxydation d'une hydroquinone



Comme dans le cas précédent, on peut considérer qu'il s'agit de la dissociation d'un acide accompagnée de la perte de deux électrons. Il apparaît donc que si l'oxydant ne peut accepter qu'un électron, nous devons considérer un mécanisme n'impliquant que le transfert d'un électron à la fois. On a alors :



L'étape intermédiaire est constituée par la formation d'une semiquinone qui résulte de la perte d'un proton et d'un électron. C'est un radical libre, ce qui signifie que quelque part dans la molécule il y a un électron non apparié. La stabilité des radicaux libres est très variable. Certains, par exemple CH_3 , ont une vie éphémère, de l'ordre de la millimicroseconde ; d'autres, par contre, lorsqu'ils sont associés à des structures résonnantes, sont relativement stables et peuvent alors être détectés à l'aide d'une technique adéquate. L'électron non apparié ne confère pas une charge négative nette à la molécule, il représente plutôt une liaison non saturée. Il donne pourtant à la molécule d'autres propriétés importantes. Les deux partenaires d'une paire d'électrons ont des spins opposés de telle sorte que leur moment magnétique s'annule. Comme le spin d'un électron célibataire n'est pas opposé au spin d'un autre électron, la molécule acquiert un moment magnétique net. Ce moment magnétique n'est pas toujours égal à celui de l'électron impair, il en représente généralement 10 à 11 %. La molécule est dite paramagnétique, alors qu'une molécule sans moment magnétique est dite diamagnétique.

Certains radicaux libres sont colorés. On peut observer leur formation par spectrophotométrie et c'est ainsi que les semi-quinones ont été mises en évidence au cours de l'oxydation des hydroquinones. On peut aussi détecter les radicaux libres à l'aide de la technique de la résonance

électronique paramagnétique. Cette dernière est plus sensible que la méthode colorimétrique.

Tableau 8-1
SÉRIE DES FORCES ÉLECTROMOTRICES DES ÉLÉMENTS

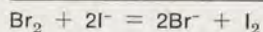
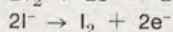
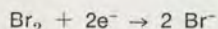
	E°		E°
Cs = Cs ⁺ + e ⁻	3.02	Co = Co ⁺⁺ + 2e ⁻	0.28
Li = Li ⁺ + e ⁻	3.02	Ni = Ni ⁺⁺ + 2e ⁻	0.25
Rb = Rb ⁺ + e ⁻	2.99	Sn = Sn ⁺⁺ + 2e ⁻	0.14
K = K ⁺ + e ⁻	2.92	Pb = Pb ⁺⁺ + 2e ⁻	0.13
Ba = Ba ⁺⁺ + 2e ⁻	2.90	H ₂ = 2H ⁺ + 2e ⁻	0.00
Sr = Sr ⁺⁺ + 2e ⁻	2.89	Cu = Cu ⁺⁺ + 2e ⁻	-0.34
Ca = Ca ⁺⁺ + 2e ⁻	2.87	2I ⁻ = I ₂ + 2e ⁻	-0.53
Na = Na ⁺ + e ⁻	2.71	Ag = Ag ⁺ + e ⁻	-0.80
La = La ⁺⁺⁺ + 3e ⁻	2.37	Pd = Pd ⁺⁺ + 2e ⁻	-0.83
Mg = Mg ⁺⁺ + 2e ⁻	2.34	Hg = Hg ⁺⁺ + 2e ⁻	-0.85
Be = Be ⁺⁺ + 2e ⁻	1.70	2Br ⁻ = Br ₂ + 2e ⁻	-1.06
Al = Al ⁺⁺⁺ + 3e ⁻	1.67	Pt = Pt ⁺⁺ + 2e ⁻	-1.20
Mn = Mn ⁺⁺ + 2e ⁻	1.05	2H ₂ O = O ₂ + 2H ⁺ + 4e ⁻	-1.23
Zn = Zn ⁺⁺ + 2e ⁻	0.76	2Cl ⁻ = Cl ₂ + 2e ⁻	-1.36
Cr = Cr ⁺⁺⁺ + 3e ⁻	0.71	Au = Au ⁺ + e ⁻	-1.68
Fe = Fe ⁺⁺ + 2e ⁻	0.44	2F ⁻ = F ₂ + 2e ⁻	-2.85
Cd = Cd ⁺⁺ + 2e ⁻	0.40		

L'électrode de référence est l'électrode d'hydrogène normale dont le potentiel est considéré comme étant égal à 0.

II. ASPECTS QUANTITATIFS DES RÉACTIONS D'OXYDO-RÉDUCTION

A. LA FORCE ÉLECTROMOTRICE DES ÉLÉMENTS

Les atomes et les molécules diffèrent quant à leur affinité pour les électrons. C'est ainsi que le brome est un oxydant assez puissant pour libérer l'iode d'un ion iodure



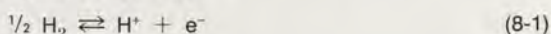
Si on plonge un morceau de métal dans une solution contenant des ions d'un autre métal, le premier peut se dissoudre en même temps qu'il se dépose du second métal à partir de ses ions. Ainsi une lame de zinc plongée dans une solution d'un sel de cuivre se recouvre d'une couche de cuivre métallique tandis que le zinc passe en solution. Par contre une lame de cuivre plongée dans une solution d'un sel de zinc ne se recouvre d'aucun dépôt de zinc métallique.

Si, dans une solution contenant à la fois des ions Zn et Cu, on place une barre de zinc et une barre de cuivre, une différence de potentiel électrique se développera entre les deux barres métalliques (électrodes). La pile ainsi constituée a une force électromotrice d'environ 1.1 volt.

Les différences d'affinité électronique des éléments trouvent leur expression quantitative dans la série bien connue des forces électromotrices des éléments (Tableau 8-1). Dans cette série, l'électrode de référence est l'électrode d'hydrogène, constituée par une électrode de platine sur laquelle on envoie un courant d'hydrogène sous pression d'une atmosphère, et qui plonge dans une solution normale d'acide.

B. LE POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION DES SYSTÈMES MOLÉCULAIRES D'IMPORTANCE BIOLOGIQUE

Considérons maintenant la dissociation de l'hydrogène moléculaire. Il s'agit évidemment d'une oxydation puisque



et on peut définir la constante de dissociation K comme étant égale à

$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{e}^-]}{[\text{H}_2]^{1/2}} \quad (8-2)$$

où $[\text{e}^-]$ représente la pression des électrons à l'endroit où se produit l'ionisation. Cette pression d'électrons est évidemment directement en rapport avec le potentiel d'électrode.

Si nous considérons ce qui se passe au niveau de l'électrode d'hydrogène, nous voyons que la dissociation réversible de l'hydrogène moléculaire s'y réalise selon l'équation (8-2) et le potentiel d'électrode sera fonction du rapport

$$\frac{\text{H}^+}{[\text{H}_2]^{1/2}}$$

On peut déterminer le potentiel en question en le comparant au potentiel de l'électrode normale à hydrogène, pris comme référence et considéré arbitrairement comme égal à 0.

Considérons alors un système comprenant deux électrodes d'hydrogène A et B, l'une, l'électrode A, étant l'électrode de référence. Si à l'électrode B la pression partielle de H_2 est inférieure à une atmosphère, la différence de potentiel $E_A - E_B$ sera

$$E_A - E_B = \frac{RT}{F} \ln [\text{H}_2]_B^{1/2} \quad (8-3)$$

Si à l'électrode B la pression partielle de H_2 est égale à une atmosphère mais si la concentration en ion H^+ est plus petite que 1 N, la différence de potentiel entre les deux électrodes sera

$$E_A + E_B' = \frac{RT}{F} \ln [\text{H}^+]_B \quad (8-4)$$

Le signe + est introduit parce que le courant électrique parcourt le circuit dans le sens inverse du précédent.

En combinant les deux expressions (8-3) et (8-4) on obtient une relation décrivant la différence de potentiel prenant naissance entre une

électrode d'hydrogène normale et une électrode d'hydrogène placée dans n'importe quel type de solution aqueuse. Il vient alors

$$(E_A - E_B) - (E_A + E'_B) = \frac{RT}{F} \ln [H_2]_B^{1/2} - \frac{RT}{F} \ln [H^+]_B \quad (8-5)$$

$$E_B + E'_B = \frac{RT}{F} \ln [H^+]_B - \frac{RT}{2F} \ln [H_2]_B \quad (8-6)$$

où $E_B + E'_B$ représente le potentiel de l'électrode d'hydrogène B. Comme l'oxydation d'une molécule organique est souvent une déshydrogénation, un tel système peut être considéré comme exerçant une certaine pression d'hydrogène. Par exemple



$$\text{et } K = \frac{[X] [H_2]}{[XH_2]} \quad (8-8)$$

on a alors

$$[H_2] = \frac{K [XH_2]}{[X]} \quad (8-9)$$

Dans une solution de cette espèce, une électrode de platine peut être utilisée pour déterminer la pression partielle d'hydrogène définie dans la relation (8-9). Cette pression dépend du rapport de la forme réduite à la forme oxydée. Le potentiel d'une électrode de platine plongée dans un tel système est celui d'une électrode à hydrogène à la pression en question et varie avec le pH comme le fait n'importe quelle autre électrode à hydrogène. Ceci devient évident si nous remplaçons dans (8-6) H_2 par la valeur définie en (8-9). Il vient :

$$E = \frac{RT}{F} \ln [H^+] - \frac{RT}{2F} \ln K \frac{[XH_2]}{[X]} \quad (8-10)$$

qui peut s'écrire

$$E = \frac{RT}{F} \ln [H^+] - \frac{RT}{2F} \ln K + \frac{RT}{2F} \ln \frac{[X]}{[XH_2]} \quad (8-11)$$

où E est le potentiel de l'électrode opposée à l'électrode d'hydrogène normale.

Pour un système donné $\frac{RT}{2F} \ln K$ est constant et dans un milieu bien tamponné $\frac{RT}{F} \ln [H^+]$ est également constant : on les remplace par une constante unique E'_0 (potentiel d'oxydo-réduction standard). Comme le nombre d'électrons n transférés par mole peut varier avec le système considéré, on écrit (8-11) sous la forme générale

$$E = E'_0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{Ox}{Red} \quad (8-12)$$

où E est le potentiel développé par une solution quelconque au niveau d'une électrode inerte (platine par exemple) ; il représente la « pression d'électrons » que la solution exerce au niveau de l'électrode. Il est égal au

potentiel d'oxydo-réduction standard E'_0 du système considéré et au rapport des concentrations de la forme oxydée (Ox) à la forme réduite (Red), selon l'expression définie en (8-12). Le potentiel d'oxydo-réduction standard E'_0 représente le potentiel développé au niveau de l'électrode inerte dans une solution contenant, à un pH donné, des quantités équimolaires des formes oxydée et réduite. Le tableau 8-2 donne quelques exemples intéressant le biochimiste.

Tableau 8-2

POTENTIELS D'OXYDO-RÉDUCTION STANDARDS DE SYSTÈMES INTERESSANT LE BIOCHIMISTE

Système	E'_0 volts	pH
$H_2O/1/2 O_2$	0.82	7.0
Cytochrome a_3 Fe^{++}/Fe^{+++}	0.55	7.0
NO_2^-/NO_3^-	0.42	7.0
Phénylalanine/dihydroxyphénylalanine	0.37	7.0
Ferrocyanure/ferricyanure	0.36	0.0
$H_2O_2/1/2 O_2 + H_2O$	0.30	7.0
Cytochrome a Fe^{++}/Fe^{+++}	0.29	7.0
Cytochrome c Fe^{++}/Fe^{+++}	0.22	7.0
2,6-Dichlorophénolindophénol red/ox	0.22	7.0
Butyryl CoA/crotonyl CoA	0.19	7.0
Hémoglobine/méthémoglobine	0.17	7.0
Cytochrome b_2 Fe^{++}/Fe^{+++}	0.12	7.4
Ubiquinone red/ox	0.10	7.4
Acide ascorbique/acide déhydroascorbique	0.08	6.4
Cytochrome b Fe^{++}/Fe^{+++}	0.07	7.4
Acide succinique/acide fumarique	0.03	7.0
Bleu de méthylène red/ox	0.01	7.0
NADH — cyto c réductase	0.0	7.0
Vitamine K_1	-0.06	7.0
FMN $_2$ /FMN	-0.12	7.0
Alanine/acide pyruvique + NH_4^+	-0.13	7.0
Acide glutamique/acide α -cétoglutarique + NH_4^+	-0.106	7.0
Acide malique/acide oxaloacétique	-0.17	7.0
Riboflavine/leucoriboflavine	-0.186	7.0
Acide lactique/acide pyruvique	-0.19	7.0
Ethanol/acétaldéhyde	-0.20	7.0
Peroxydase	-0.25	7.0
Acide β -hydroxybutyrique/acide acétoacétique	-0.27	7.0
NAD $_2$ /NAD + 2H	-0.28	7.0
NADPH $_2$ /NADP + 2H	-0.28	7.0
3-phosphoglyceraldéhyde + P_i /acide 1,3-diphosphoglycérique	-0.29	7.0
α -lipoate	-0.29	7.0
Acide malique/acide pyruvique + CO_2	-0.33	7.0
Glutathion red/ox	-0.34	7.0
Xanthine/acide urique	-0.36	7.0
Acétaldéhyde + CoA/acétyl-CoA	-0.41	7.0
$1/2 H_2/H^+$	-0.42	7.0
Acétaldéhyde/acide acétique	-0.60	7.0
Acide α -cétoglutarique/acide succinique + CO_2	-0.67	7.0
Acide pyruvique/acide acétique + CO_2	-0.70	7.0

En se rappelant que $\ln x = 2.3 \log x$, l'équation (8-12) peut s'écrire pour un système placé à la température de 30 °C :

$$E = E'_0 + 0.06 \log \frac{Ox}{Red} \quad (8-12a)$$

si $n = 1$, ou encore

$$E = E'_0 + 0.03 \log \frac{Ox}{Red} \quad (8-12b)$$

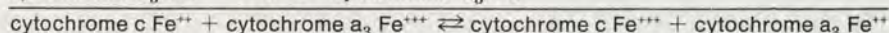
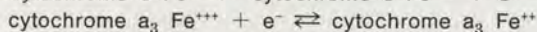
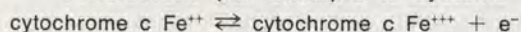
si $n = 2$,

Il est intéressant de remarquer que dans ce tableau la valeur de E_o' est donnée en terme de potentiel d'électrode alors que dans le cas du tableau 8-1, nous avons donné la pression d'électrons développée par un système d'oxydo-réduction en terme de force électromotrice de l'électrode. Cette dernière convention est utilisée dans le cas des électrodes métalliques. Comme le potentiel d'électrode est égal à la valeur négative de la force électromotrice, le signe est donc inversé.

Dans le tableau 8-2 et en considérant l'équation (8-12) on peut voir que de deux systèmes au même pH, c'est celui qui a le potentiel le plus négatif qui sera le plus réducteur puisqu'il est en équilibre avec une pression d'hydrogène plus grande.

En conséquence, le partenaire oxydé d'une paire sera réduit par le partenaire réduit d'un système possédant une valeur de E_o' plus négative.

Considérons par exemple le système



La constante d'équilibre de la réaction est donnée par l'expression :

$$K = \frac{[\text{cyto } a_3 \text{ Fe}^{++}] [\text{cyto c Fe}^{+++}]}{[\text{cyto } a_3 \text{ Fe}^{+++}] [\text{cyto c Fe}^{++}]}$$

A pH 7 et dans les conditions standards $E = E_o'$ puisque le rapport $\frac{\text{Ox}}{\text{Red}} = 1$.

E_o' pour le système cytochrome a_3 est 0.55 V. Dans les mêmes conditions, il est de 0.22 V pour le système cytochrome c. En mélangeant des solutions équimolaires des deux systèmes, nous allons obtenir une réaction d'oxydo-réduction qui se déroulera jusqu'à égalité des potentiels. A l'équilibre on aura alors

$$E_o'(\text{cyto } a_3) + 0.06 \log \frac{[\text{cyto } a_3 \text{ Fe}^{+++}]}{[\text{cyto } a_3 \text{ Fe}^{++}]} = E_o'(\text{cyto c}) + 0.06 \log \frac{[\text{cyto c Fe}^{+++}]}{[\text{cyto c Fe}^{++}]} = \Delta E_o'$$

$$\Delta E_o' = 0.06 \log \frac{[\text{cyto } a_3 \text{ Fe}^{++}] [\text{cyto c Fe}^{+++}]}{[\text{cyto } a_3 \text{ Fe}^{+++}] [\text{cyto c Fe}^{++}]}$$

et en remplaçant :

$$0.55 \text{ V} - 0.22 \text{ V} = 0.06 \log K.$$

En d'autres termes, la différence de potentiel entre les solutions originales détermine la quantité relative de chaque composant du système à l'équilibre.

Tout comme dans le cas de la titration d'un acide par une base on peut suivre l'évolution de la réaction en utilisant soit un indicateur dont la couleur dépend du degré d'oxydation, soit une mesure de potentiel électrique. La figure 8-1 montre l'allure des courbes de titration potentiométrique obtenues lorsque le nombre d'électrons transférés est $n = 1$ ou $n = 2$.

Il est intéressant de remarquer la similitude des courbes obtenues au cours d'une titration acidimétrique avec celles de la figure 8-1, similitude prévue par l'identité de forme de l'équation (8-2) et de l'équation d'Henderson-Hasselbalch (voir p. 125).

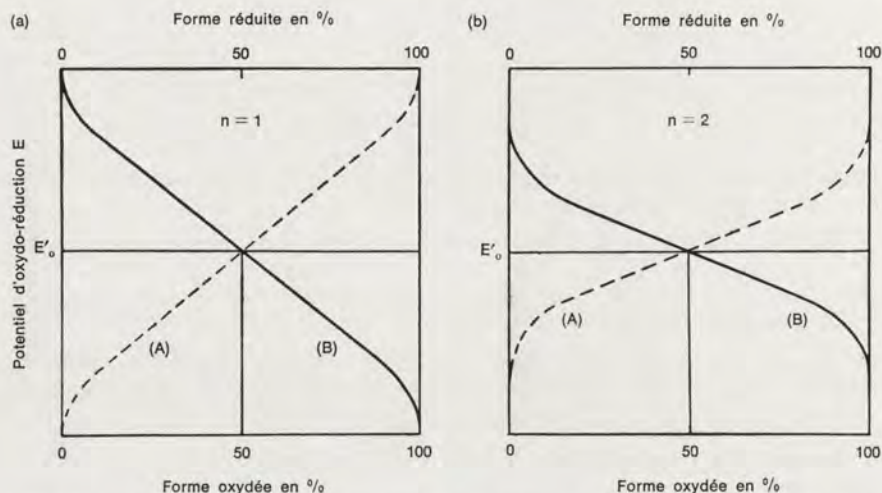


FIG. 8-1. Titration potentiométrique. Evolution du potentiel en fonction du pourcentage des formes réduite et oxydée dans le cas du transfert d'un ou de deux électrons.

C. LES RELATIONS ÉNERGÉTIQUES DANS LES SYSTÈMES D'OXYDO-RÉDUCTION

L'intérêt que le biologiste porte aux phénomènes d'oxydo-réduction réside essentiellement dans le fait qu'il s'agit de processus fournissant de l'énergie. Comme nous venons de le montrer, lorsque deux systèmes, possédant des potentiels d'oxydo-réduction standards différents, sont mélangés, le partenaire oxydé de la paire possédant le potentiel le moins négatif (ou le plus positif) est réduit par le partenaire réduit de la paire possédant le potentiel le plus négatif (ou le moins positif).

Donc

$$\Delta E'_0 = \frac{RT}{nF} \ln \frac{[XH_2] [Y]}{[X] [YH_2]} \quad (8-13)$$

où E'_0 du système YH_2 est plus négatif que E'_0 du système XH_2 . La constante d'équilibre de cette réaction est alors

$$K = \frac{[XH_2] [Y]}{[X] [YH_2]} \quad (8-14)$$

et

$$\Delta E'_0 = \frac{RT}{nF} \ln K \quad (8-15)$$

qui peut s'écrire

$$nF\Delta E'_0 = RT \ln K \quad (8-16)$$

Nous avons établi plus haut une relation entre la constante d'équilibre et la variation d'énergie libre standard d'une réaction :

$$\Delta F^\circ = - RT \ln K \quad (8-17)$$

On peut donc écrire

$$\Delta F^\circ = - nF\Delta E'_0 \quad (8-18)$$

Ce qui signifie que la variation d'énergie libre standard accompagnant la réaction entre deux systèmes d'oxydo-réduction peut être calculée à

partir des valeurs de potentiel E'_0 . En se rappelant que les dimensions de l'équation (8-18) sont des coulombs-volts ou joules, pour obtenir la valeur de la variation d'énergie libre dans les unités habituelles, c'est-à-dire en calories, il faut donc diviser par 4.18 (1).

Considérons à titre d'exemple la variation d'énergie libre qui accompagne la synthèse de glutamate à partir d' α -cétylglutarate au cours de l'oxydation du NAD red (2). Les conditions sont telles que les réactifs sont à l'état standard, le pH des solutions est égal à 7.

Le tableau 8-2 indique que E'_0 pour le glutamate est de -0.106 V et de -0.28 V pour le système NAD red/NAD. Dans la réaction considérée

$$\begin{aligned} n &= 2 \\ \Delta F^\circ &= -nF\Delta E'_0 \\ \Delta E'_0 &= -0.106 - (-0.28) = 0.18 \text{ V} \\ \Delta F^\circ &= -\frac{2 \times 96\,500 \times 0.18}{4.18} \text{ calories} = -8\,300 \text{ calories} \end{aligned}$$

La valeur de ΔF° ainsi obtenue représente donc la variation d'énergie libre qui accompagne l'oxydation d'une mole de réducteur. Il s'agit d'une quantité d'énergie qui, dans des circonstances que nous allons définir plus loin, pourra être captée par la cellule et utilisée pour l'accomplissement de réactions endergoniques.

Il faut remarquer que dans un système biologique la connaissance du potentiel d'oxydo-réduction standard, si elle est importante, peut parfois conduire à des interprétations erronées.

En effet, la première question à résoudre est de savoir comment le potentiel d'oxydo-réduction d'un système biologique en solution peut s'appliquer au même système *in situ*. Cette remarque s'applique particulièrement aux systèmes enzymatiques dont l'état physique ou chimique dans la cellule peut différer radicalement de celui qu'ils ont en solution vraie.

La pertinence et le bien-fondé de cette mise en garde sont apparents dans l'étude des pigments respiratoires de la mitochondrie (p. 314), mais ceci est également vrai des systèmes enzymatiques du cytoplasme puisque

(1) L'équation des gaz parfaits est donnée par la relation

$$PV = RT.$$

La valeur de R dépend évidemment des unités employées pour exprimer V et P.

Si P est exprimé en atmosphères et V en litres on a, à température et pression normales :

$$R = \frac{1 \times 22.4}{273} = 0.082 \text{ L. atm M}^{-1} \text{ deg}^{-1}.$$

Si P est donné en dynes cm^{-2} et V en ml :

$$P = 76 \times 13.59 \text{ (densité Hg)} \times 981 \text{ dynes cm}^{-2}.$$

$$R = \frac{76 \times 13.59 \times 981 \times 22\,400}{273} = 8.314 \times 10^7 \text{ ergs M}^{-1} \text{ deg}^{-1} = 8.314 \text{ joules M}^{-1} \text{ deg}^{-1}.$$

Comme $4.184 \times 10^7 \text{ ergs} = 4.184 \text{ joules} = 1 \text{ calorie-gramme}$

$$R = \frac{8.314}{4.184} = 1.987 \text{ calories M}^{-1} \text{ deg}^{-1}.$$

Si P est donné en cm d'eau (au lieu de cm de Hg comme plus haut) on a :

$$R = \frac{76 \times 13.59 \times 22\,400}{273} = 8.471 \times 10^4 \text{ ml cm H}_2\text{O M}^{-1} \text{ deg}^{-1}.$$

(2) Sauf dans le cas où nous désirons mettre en évidence le changement d'ionisation, nous représenterons les formes réduite et oxydée des nucléotides de l'adénine par les symboles : NAD red et NAD.

le nombre des arguments en faveur de l'organisation de ces systèmes augmente chaque jour au détriment de ces théories qui postulent l'existence d'enzymes « en solution » dans le liquide intracellulaire.

Enfin il est important de rappeler que tout calcul thermodynamique n'a de sens que si on connaît la valeur du rapport des concentrations des produits et des réactifs des systèmes considérés.

Dans le cas de la chaîne respiratoire (p. 314), on a généralement soit ignoré cette difficulté soit spéculé quant à la valeur possible des rapports considérés. Les travaux de Chance et de ses collaborateurs ont toutefois permis d'apporter quelques précisions à ce sujet, en mesurant, par spectrophotométrie dans la mitochondrie intacte, le rapport de la forme oxydée à la forme réduite pour divers composants de la chaîne respiratoire. Le tableau 8-3 résume les résultats obtenus et montre comment, à partir de l'équation (8-12) on peut calculer le potentiel d'oxydo-réduction réel d'un système donné *in situ* à partir de la connaissance de son potentiel d'oxydo-réduction standard et du rapport des formes oxydée et réduite.

Dans le cas des éléments de la chaîne respiratoire le rapport de la forme oxydée à la forme réduite est généralement voisin de 1 donc le potentiel d'oxydo-réduction standard s'applique assez bien. Dans le cas du cytochrome a_3 , au contraire, le rapport est très grand et difficile à estimer. Toutefois le résultat est un déplacement du potentiel du cytochrome a_3 vers celui de l'oxygène.

Tableau 8-3

LE POTENTIEL D'OXYDO-REDUCTION DES COMPOSANTS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE
Le rapport Ox/Red est calculé pour les éléments de la chaîne respiratoire d'une mitochondrie en équilibre dynamique
(d'après Chance et Williams, 1956)

	E'_0	$\frac{\text{Ox}}{\text{red}}$	E
NADH	-0.28	1.13	-0.318
FP	-0.060	4.0	-0.030
Cyto b	-0.040	5.2	0.0
Cyto b	0		+0.040
Cyto c	+0.260	16	+0.330
Cyto a	+0.290	19	+0.370
Cyto a_3		très grand	déplacé vers O_2
O_2	+0.815	$p\text{O}_2 = 1 \text{ atm}$	+0.800

III. LE POTENTIEL DE GROUPE

A. RÔLE DES PHOSPHATES À POTENTIEL ÉNERGÉTIQUE ÉLEVÉ

Un corollaire important du fait qu'un système vivant obéit à la première loi de la thermodynamique est que l'énergie nécessaire pour l'activité anabolique provient des réactions cataboliques. Cette constatation conduit évidemment à la notion de couplage, qui permet d'expliquer comment l'énergie catabolique est utilisée pour les synthèses et pour les autres activités cellulaires.

Pour approfondir cette notion, discutons d'abord le concept de réversibilité en termes de réactions biologiques. Toutes les réactions chimiques tendent vers un équilibre si elles sont laissées à elles-mêmes, par exemple

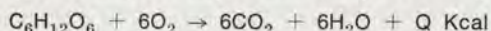


La thermodynamique ne dit rien à propos de la vitesse d'atteinte de l'équilibre. Si un catalyseur adéquat est présent, l'équilibre est rapidement établi. Dans les systèmes biologiques, ces catalyseurs sont les enzymes. La composition du système à l'équilibre est déterminée par la variation d'énergie libre du système et par l'activité des réactifs et des produits de la réaction. Lorsque nous disons qu'une réaction est irréversible, par exemple



nous voulons dire que l'énergie libre des produits est beaucoup plus petite que l'énergie libre des réactifs. La réaction de gauche à droite domine la réaction en sens inverse. L'ensemble de la réaction est donc considéré comme irréversible dans la direction droite gauche.

Considérons par exemple l'oxydation complète du glucose :



Cette réaction s'accompagne d'une libération d'énergie libre, $-\Delta F = Q \text{ Kcal}$, dissipée sous forme de chaleur et dont la quantité est donnée par la relation

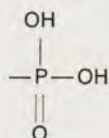
$$\Delta H = \Delta F + T\Delta S$$

Elle représente la différence existant entre la chaleur de formation des produits et la chaleur de formation des réactifs. Dans les conditions standard, cette différence est de -673 Kcal . En principe, pour que la réaction se fasse de droite à gauche, c'est-à-dire pour synthétiser le glucose, $Q \text{ Kcal}$ doivent être fournies au système. La deuxième loi de la thermodynamique indique que la chaleur, pour être convertie en travail, doit circuler le long d'un gradient de température (machine à vapeur par exemple). Comme dans les systèmes biologiques, la température est essentiellement constante, la réversibilité des réactions exergoniques ne pourra être obtenue par simple adjonction d'énergie calorifique.

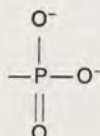
Il est clair que le travail cellulaire n'est pas accompli en utilisant la chaleur libérée au cours des oxydations. L'énergie libérée dans ces processus est, au contraire, employée pour synthétiser, selon un processus que nous allons définir, des molécules dont l'énergie chimique servira à alimenter l'activité cellulaire. Quelle que soit la nature chimique du matériel oxydé (lipides, glucides, acides aminés, etc.), l'énergie libre rendue disponible aux différentes étapes des processus oxydatifs est immédiatement employée pour synthétiser une classe spéciale de composés qui constituent la monnaie énergétique la plus couramment utilisée dans les processus cellulaires endergoniques.

Cette synthèse s'effectue par incorporation d'un radical R à un des réactifs (amorçage). Au cours de l'évolution, il s'est opéré une sélection très particulière quant au choix non seulement du radical intervenant dans la réaction d'amorçage, mais aussi dans la nature des molécules capables de réaliser ces réactions.

Le radical R le plus généralement utilisé est le résidu phosphorylé

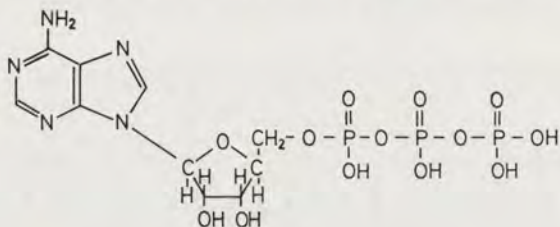


qui, au pH voisin de la neutralité du liquide intracellulaire, existe sous la forme anionique



Le donneur principal de ce radical est le triphosphate d'adénosine (symbole ATP).

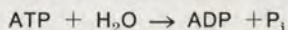
Avec d'autres composés phosphorylés que nous allons examiner, il constitue la catégorie des phosphates à potentiel énergétique élevé.



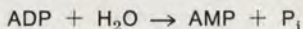
ATP

Cette dénomination indique que les phosphates appartenant à ce groupe possèdent une énergie libre d'hydrolyse exceptionnellement grande. Alors que cette énergie est, dans la majorité des phosphates ordinaires, de l'ordre de 3 Kcal M⁻¹, elle atteint une valeur voisine de 8 Kcal M⁻¹ dans les composés dits « riches en énergie ».

Dans le cas de l'ATP, l'hydrolyse du phosphate terminal donne un diphosphate d'adénosine (ADP) et du phosphate inorganique (P_i)



réaction qui s'accompagne de la libération de - 8 Kcal M⁻¹. L'ADP peut à son tour être hydrolysé



et fournir du monophosphate d'adénosine et du phosphate inorganique avec production de - 8 Kcal M⁻¹.

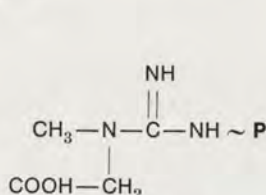
Par contre l'hydrolyse de l'AMP s'effectue avec une variation d'énergie libre qui, bien que négative, n'est que de 3 Kcal M⁻¹.

Ces exemples montrent qu'il existe des différences importantes dans les caractéristiques des résidus phosphates. Elles dépendent de la structure du substrat auquel ils sont attachés.

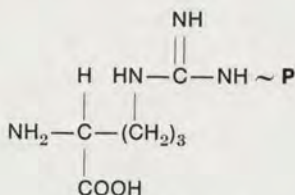
B. CLASSIFICATION DES PHOSPHATES À POTENTIEL ÉNERGÉTIQUE ÉLEVÉ

L'ATP et l'ADP sont les phosphates « riches en énergie » les plus importants. Ils ne sont pas les seuls. Le groupe des phosphates à potentiel énergétique élevé comporte en outre :

1. Les phosphates de guanidine, par exemple les phosphates de créatine et d'arginine



Phosphate de créatine



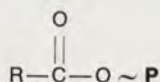
Phosphate d'arginine

où le symbole $\sim \text{P}$ représente un résidu phosphorylé dont l'énergie libre d'hydrolyse a une valeur élevée. Ces molécules sont essentiellement des pools locaux d'énergie. Ils sont formés à partir de l'hydrolyse de l'ATP (voir plus bas) et représentent le principal réservoir d'énergie qui, à la demande, régénère l'ATP à partir d'ADP. Cette réaction réversible (réaction de Lohmann) sera discutée plus en détail dans la section suivante.

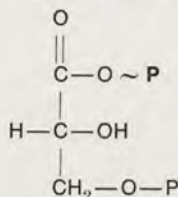
Les cellules ont besoin d'un apport constant d'ATP. Toutefois, la quantité d'ATP présente dans les cellules est faible. Quand l'activité cellulaire est telle qu'elle nécessite un apport abondant d'ATP, cette molécule est synthétisée par l'intermédiaire de la réaction de Lohmann.

D'autre part, si le jeu des oxydations cellulaires est tel qu'il y a production importante d'ATP, l'énergie ainsi produite est mise en réserve dans les phosphagènes, si l'ATP n'est pas utilisé immédiatement.

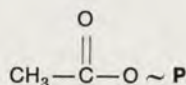
2. Les acyl-phosphates de formule générale



Les représentants importants de ce groupe sont l'acide 1,3-diphosphoglycérique et l'acétyl-phosphate



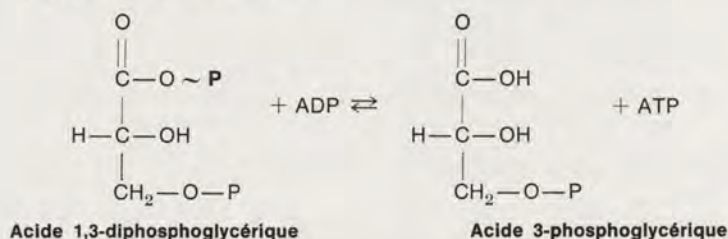
Acide 1,3-diphosphoglycérique



Acétyl-phosphate



Le premier de ces composés transfère le phosphate riche en position 1, à l'ADP, pour former de l'ATP.

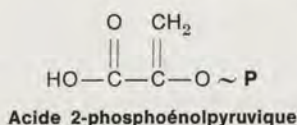


Le second joue le rôle de réservoir pour la formation d'ADP et est un précurseur de l'acétyl-coenzyme A qui est la forme active de l'acétate dans les réactions métaboliques et plus particulièrement de l'entrée de cette molécule dans le cycle de Krebs.

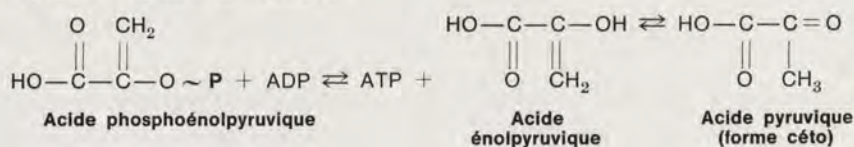
Il est intéressant de noter que le rôle dévolu aux guanidinophosphates chez les animaux revient aux carboxyl- (ou acyl-) phosphates chez les plantes, les algues, les champignons et les bactéries.

3. Les énoïl-phosphates

Un composé important appartenant à ce groupe est l'acide 2-phosphoénolpyruvique



La transphosphorylation sur les nucléotides à partir de phosphoénolpyruvate se fait selon la réaction



et est une étape importante de la glycolyse (voir p. 279). Les phénylphosphates appartiennent également à ce groupe.

En considérant les formules des différents composés qui viennent d'être examinés, il est apparent que les phosphates « riches en énergie » appartiennent à la catégorie des molécules conjuguées. Les électrons pi du résidu phosphoryle se conjuguent soit avec un autre résidu phosphoryle soit avec d'autres molécules qui en possèdent, ce qui suggère que la « richesse énergétique » doit être liée à l'existence de cette délocalisation électronique.

La variation d'énergie libre élevée obtenue lors de l'hydrolyse traduit le fait que les produits d'hydrolyse des phosphates riches présentent des

incréments de stabilité supérieurs à ceux de l'hydrolyse d'une liaison ester ordinaire. La richesse énergétique (plus correctement le potentiel chimique, voir plus loin) provient de plusieurs contributions distinctes dont les principales sont :

a) *L'opposition de résonance*

qui signifie que la somme des énergies de résonance des produits d'hydrolyse est supérieure à l'énergie de résonance de la molécule de phosphate « riche ».

b) *L'énergie d'interaction électrostatique*

La distribution des charges électroniques nettes, résultant du déplacement des électrons mobiles, produit dans certains cas de fortes répulsions électrostatiques.

On observe en effet, dans toutes les molécules à liaisons « phosphates riches », l'existence d'une chaîne centrale d'au moins trois atomes portant des charges nettes positives et entourés par un certain nombre d'atomes portant des charges nettes de signe opposé. La figure 8-2 donne la distribution des charges nettes dans les molécules intervenant dans la constitution des phosphates riches en énergie. Cette distribution particulière des charges produit au sein de la molécule des répulsions électrostatiques supérieures à celles qui existent dans les produits d'hydrolyse.

c) *L'énergie de tautomérisation*

Lors de l'hydrolyse du phosphoénolpyruvate, il y a transformation de l'énolpyruvate formé, en sa forme tautomère cétonique. On a montré que l'énergie libre d'hydrolyse provient essentiellement de la transformation tautomérique observée. L'énergie de cette transformation n'est pas connue avec exactitude mais est estimée à 5.5-9 Kcal M⁻¹.

d) *L'énergie libre d'ionisation*

Dans le cas des carboxyl-phosphates, l'hydrolyse s'accompagne de la formation d'un radical carboxyle, dont l'ionisation à pH 7 représente une diminution d'énergie libre de l'ordre de 3 Kcal M⁻¹. Dans le cas des guanidinophosphates, la neutralisation de la base formée au cours de l'hydrolyse s'accompagne également d'une diminution d'énergie libre dont la valeur exacte n'a toutefois pas encore été établie.

Les différentes contributions à l'énergie libre des phosphates « riches en énergie » sont résumées dans le tableau 8-4, qui présente les résultats théoriques et les compare aux valeurs trouvées expérimentalement. On peut voir que l'accord est satisfaisant.

Il est intéressant de remarquer qu'à cette instabilité thermodynamique des phosphates riches correspond une grande stabilité cinétique en solution aqueuse. Nous avons déjà signalé plus haut à propos de la variation d'énergie libre accompagnant une réaction chimique, que dans certains cas, en dépit du fait que la réaction est thermodynamiquement possible ($\Delta F < 0$), il est nécessaire d'introduire un catalyseur, pour que la réaction se déroule à une vitesse appréciable. Dans le cas des « phosphates riches », l'hydrolyse, bien que thermodynamiquement possible, ne se produit qu'en

présence d'un enzyme (catalyseur) approprié. C'est évidemment une circonstance particulièrement favorable qui, jointe au fait qu'ils sont « riches en énergie » rend cette classe de composés particulièrement aptes à remplir le rôle de source principale d'énergie libre cellulaire.

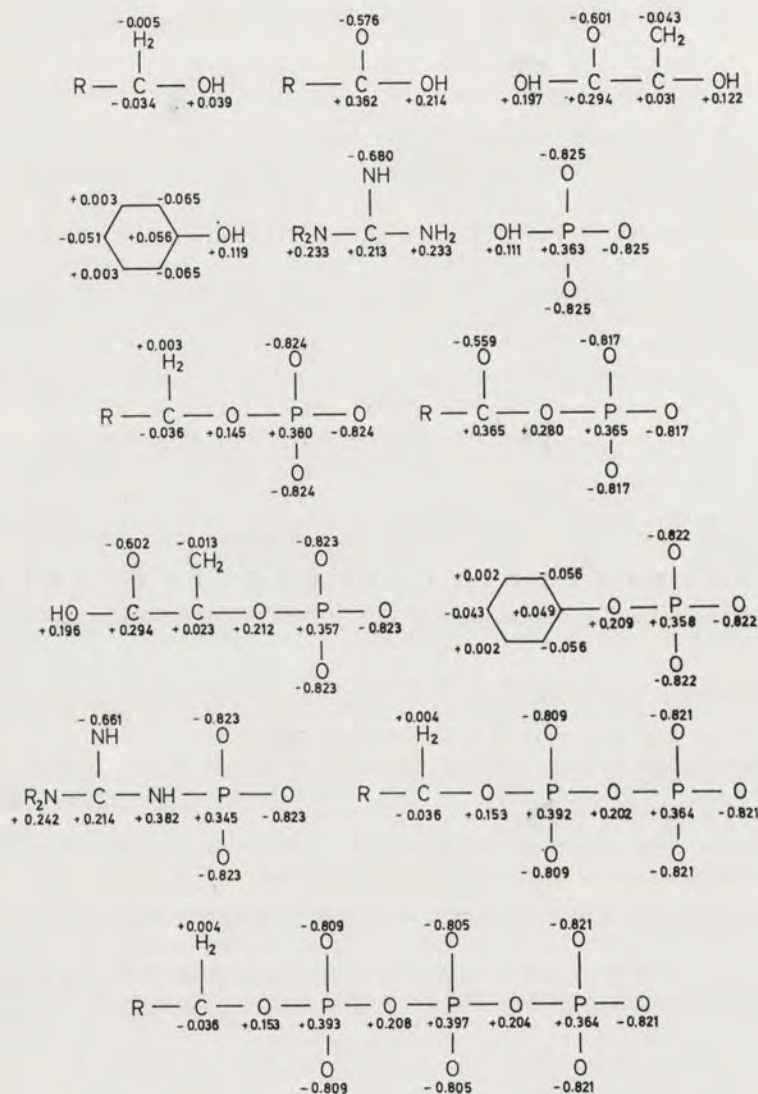


FIG. 8-2. Distribution des charges électriques nettes dans les molécules intervenant dans la constitution des phosphates à potentiel énergétique élevé (d'après Pullman et Pullman, 1963).

Tableau 8-4
LE POTENTIEL CHIMIQUE DES PHOSPHATES EN Kcal-M⁻¹
(d'après Pullman et Pullman, 1963)

Composé	Valeur expérimentale	Contributions évaluées					Total
		Fondamentale (1)	Opposition de résonance	Répulsion électrostatique (2)	Tautomérisation	Energie libre d'ionisation	
ATP	7-8	3	2.6	+ 2.0	—	—	7.6
ADP	7-8	3	2.6	+ 1.4	—	—	7
Carboxyl-phosphate	10-12	3	4.6	- 0.7	—	3.2	10.1
Phosphoénolpyruvate	11.5-12.5	3	1	- 0.5	9	—	12.5
Guanidinophosphate	9-10	3	1.2	- 0.7	—	?	?

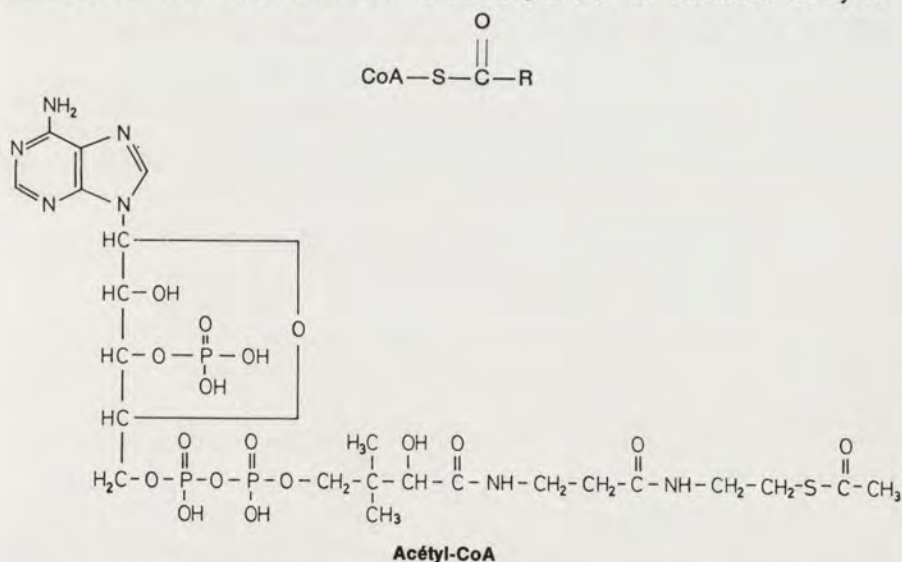
(1) L'énergie libre d'hydrolyse d'un ester phosphoré ordinaire est voisine de 3 Kcal M⁻¹.

(2) Le signe + signifie répulsion, le signe — attraction.

C. AUTRES COMPOSÉS À POTENTIEL ÉNERGÉTIQUE ÉLEVÉ

1. Acyl-thioesters

Le principal représentant de ce groupe est l'acétyl-coenzyme A qui constitue la forme d'introduction de l'acétate activé dans le cycle de Krebs. Comme nous le verrons plus loin ce cycle joue un rôle essentiel dans la production d'ATP, qui est formé au cours de chaînes respiratoires amorcées lors des différentes étapes de l'oxydation des membres du cycle.

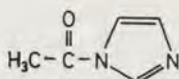


L'acétate est un produit d'oxydation non seulement des acides gras mais aussi des glucides, le cycle de Krebs représente donc une voie métabolique commune à ces deux classes de substances.

L'énergie libre d'hydrolyse de l'acétyl-CoA est de 6.3 Kcal M⁻¹ et provient vraisemblablement du caractère positif de la liaison C-S qui est soumise à l'hydrolyse.

2. Acyl-imidazoles

Il s'agit d'une catégorie récemment découverte, de composés « riches en énergie ». L'énergie libre d'hydrolyse de l'acétyl-imidazole est de l'ordre de 13 Kcal M⁻¹. C'est une molécule dont l'opposition de résonance a une valeur élevée, ce qui implique l'existence de répulsions électrostatiques importantes.



Acétyl-imidazole

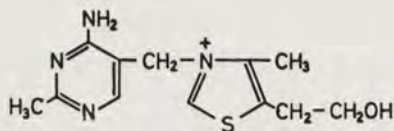
Le rôle de ces composés paraît être celui de transmettre l'énergie dans certaines réactions enzymatiques.

3. Enfin les composés onium constituent une autre classe importante de molécules « riches en énergie ».

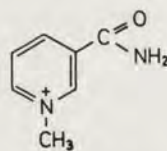
a) Les dérivés sulfonium (S-adénosylméthionine par exemple) jouent un rôle important comme donneurs de groupes méthyle.

b) Les dérivés aliphatiques de l'ammonium quaternaire, la choline et ses esters (acétylcholine par exemple), sont impliqués dans la génération des potentiels bioélectriques.

c) Les dérivés onium hétérocycliques comprennent des composés qui sont des coenzymes importants dont la structure et les propriétés ont été discutées en détail (Chap. 5 et 7). A cette catégorie, appartiennent les dérivés du thiazolium (la thiamine et son ester phosphorique, par exemple) et les dérivés du pyridinium (NAD et NADP, N'-méthyl-nicotinamide par exemple).



Thiamine



N'-méthyl-nicotinamide

La caractéristique générale des dérivés onium « riches en énergie » est qu'ils présentent tous une charge positive nette importante aux deux extrémités de la liaison dissociable. Ce caractère, qu'ils ont en commun avec les esters phosphorés riches, joint aux autres caractéristiques en rapport avec leur structure résonnante, rend compte de leur rôle important comme source d'énergie métabolique.

IV. LE CONCEPT DE COUPLAGE D'ÉNERGIE

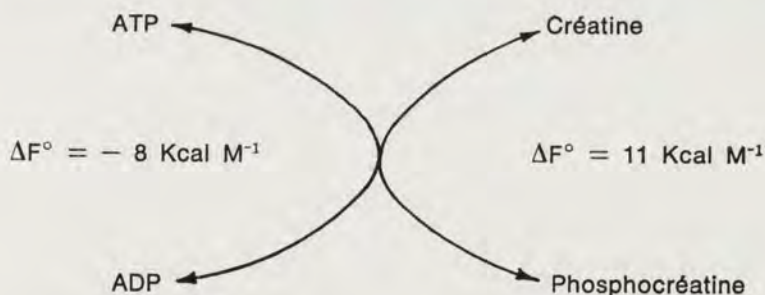
Nous avons déjà signalé qu'en vertu de la première loi de la thermodynamique, il est évident que l'énergie des réactions cataboliques doit être utilisée pour l'activité anabolique de la cellule. Le fondement de l'énergétique biochimique repose sur cet important concept de **couplage d'énergie**. La seule exigence thermodynamique devant être satisfaite pour qu'une réaction exergonique puisse être utilisée dans la réalisation d'une réaction endergonique est que la réaction exergonique libère plus d'énergie que n'en consomme la réaction endergonique, de sorte que le système pris dans son ensemble fonctionne de façon exergonique.

Du point de vue chimique, la réalisation du couplage implique que le transfert d'énergie d'une réaction à l'autre se fasse par l'intermédiaire d'un réactif commun aux deux réactions.

Les composés « riches en énergie » que nous venons d'examiner constituent en fait ce réactif commun. Quelques exemples de couplage feront mieux comprendre l'importance de ce concept.

Le premier exemple que nous allons considérer est donné par la réaction dite de Lohmann, au cours de laquelle un groupe phosphate est transféré réversiblement sur la créatine avec formation d'ADP et de phosphocréatine (CrP). Cette réaction est catalysée par la créatine-kinase (E.N. 2.7.3.2). La fixation du phosphate sur la créatine ne peut se faire directement puisqu'elle est associée à une valeur positive de ΔF° . Si, d'autre part, la réaction est couplée à l'hydrolyse de l'ATP, la transformation globale s'effectuera avec une valeur de ΔF voisine de zéro (¹).

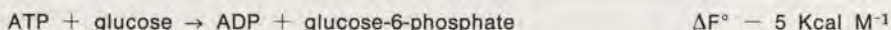
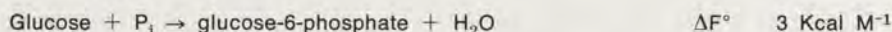
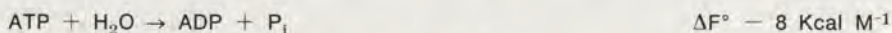
Il s'agit d'un système réversible qu'on peut schématiser de la façon suivante



Le deuxième exemple est donné par la synthèse du glycogène à partir de glucose.

(¹) Cfr p. 193 pour la distinction à faire entre le potentiel d'oxydo-réduction *standard* et le potentiel d'oxydo-réduction. Cette distinction d'importance pratique s'applique également au cas de la variation d'énergie libre (voir p. 23).

Le glycogène est un polymère composé d'unités glucose, reliées entre elles par des ponts 1,4-glucosidiques (Chap. 6). Le glucose doit être phosphorylé avant d'être mis en réserve sous forme de glycogène. Comme le ΔF° pour la phosphorylation du glucose est positif, une introduction directe du phosphate est impossible. Néanmoins, en présence d'ATP et d'un enzyme approprié, l'hexokinase (E.N.2.7.1.1), la réaction se fait aisément. Le bilan énergétique est alors le suivant :



Le bilan se solde par une variation d'énergie de -5 Kcal M^{-1} , ce qui indique que la réaction se fera spontanément en présence d'hexokinase ; elle sera unidirectionnelle et irréversible.

Les deux exemples qui viennent d'être cités montrent qu'en fait, on ne peut pas considérer ΔF° comme représentant un paquet d'énergie qui peut être pris à une molécule et transféré à une autre en même temps que s'accomplit le transfert d'un groupe phosphoryle.

Cette situation indique clairement combien l'expression « riche en énergie » peut prêter à confusion. Il est en effet évident que la notion de liaison chimique est en réalité associée à la notion de libération d'énergie au cours de sa formation et que de l'énergie est toujours nécessaire pour briser une liaison (voir chapitre 4).

Dans la section précédente, nous avons analysé à la lumière des progrès récents de la biochimie électronique, les facteurs permettant d'expliquer la haute teneur en énergie de certaines molécules privilégiées. Nous avons ainsi montré que cette haute teneur en énergie n'est pas liée à un type particulier de liaison, phosphate terminal par exemple, mais résulte de la conjonction de caractères particuliers dépendant des possibilités de délocalisation électronique du porteur du radical phosphoryle. S'il n'en était pas ainsi le glucose-6-phosphate ne serait pas un composé « pauvre » en énergie (or il l'est puisque son ΔF° est de 3 Kcal M^{-1}).

Il est préférable d'utiliser, comme le propose Lipmann, le terme de potentiel de groupe plutôt que celui de composés « riches en énergie ». On compare alors la variation d'énergie apportée à un composé lorsqu'il passe de l'état stable (ou de composé libre) à l'état activé.

Dans le cas particulier qui nous occupe, l'état stable du groupe phosphoryle correspond au niveau énergétique du phosphate inorganique. Une mesure de l'activation du groupe est donnée par la détermination de son énergie d'hydrolyse, c'est-à-dire celle qui concerne l'énergie libérée lors de la conversion du phosphate terminal de l'ATP en phosphate inorganique au cours de l'hydrolyse. Plus le potentiel du groupe est élevé et plus la quantité d'énergie libérée est importante. Enfin il est utile de signaler que les variations énergétiques qui ont été considérées dans ce qui précède, ont trait à ΔF° , c'est-à-dire à la variation d'énergie libre obtenue lorsque les réactifs sont à l'état standard. En fait la variation

d'énergie libre d'une réaction est, comme nous l'avons signalé plus haut (Chap. 3), définie par

$$\Delta F = -RT \ln K + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

$$\Delta F = \Delta F^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Si donc, dans un système biologique, les réactifs sont maintenus à des concentrations éloignées de la position d'équilibre, la valeur de ΔF pourra être significativement plus grande ou plus petite que ΔF° . C'est ce qui explique la possibilité d'accomplissement de la réaction de Lohmann dans une cellule vivante.

Comme les lignes qui précèdent le démontrent, il est clair que l'hydrolyse de l'ATP est la source immédiate d'énergie libre de nombreux processus endergoniques. Nous pouvons clore cette section en présentant un dernier exemple illustrant le mécanisme intime par lequel une réaction endergonique capture l'énergie libérée par un processus exergonique.

Considérons la synthèse de l'acétylcholine

Acétate + choline + acétylcholine

$$\Delta F^\circ = + 3 \text{ Kcal M}^{-1}$$

Il s'agit de la formation d'un ester s'accompagnant d'une variation d'énergie libre positive, réaction qui ne peut se faire spontanément dans le sens considéré.

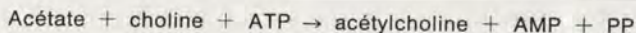
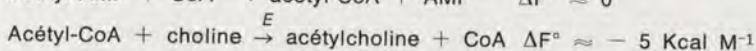
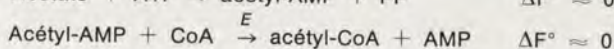
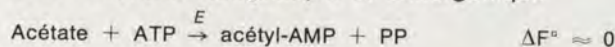
Comme nous l'avons dit, l'hydrolyse de l'ATP est une réaction exergonique et

ATP + H₂O → AMP + PP

$$\Delta F^\circ = - 8 \text{ Kcal M}^{-1}$$

est une réaction thermodynamiquement possible.

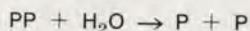
La synthèse de l'acétylcholine est réalisée au cours des réactions suivantes, qui illustrent le rôle important de l'intermédiaire commun aux deux réactions exergonique et endergonique



$$\Delta F^\circ \approx - 8 \text{ Kcal M}^{-1} + 3 \text{ Kcal M}^{-1}$$

$$\Delta F^\circ \approx - 5 \text{ Kcal M}^{-1}$$

Dans cette séquence métabolique, la première réaction a un ΔF° voisin de 0 ce qui signifie qu'il s'agit d'un système pouvant fournir de l'ATP à partir de pyrophosphate et d'acétyl-AMP. Dans la cellule, cette réaction se fait toutefois dans le sens d'une hydrolyse de l'ATP, parce que la concentration en pyrophosphate est maintenue très basse grâce à l'existence d'un enzyme, la pyrophosphatase (E.N. 3.6.1.1), qui hydrolyse le pyrophosphate :



$$\Delta F^\circ = - 7 \text{ Kcal M}^{-1}$$

Cette réaction, s'accomplissant avec une variation importante d'énergie libre, est pratiquement irréversible. En l'absence de pyrophosphatase, le pyrophosphate s'accumulant, forcerait la réaction dans le sens de la synthèse d'ATP, au détriment de celle de l'acétylcholine. Cet exemple nous permet de montrer pourquoi l'ATP et non l'ADP est le donneur principal d'énergie dans de nombreux processus biosynthétiques irréversibles qui seront examinés en détail dans la suite.

A partir des faits qui viennent d'être exposés, une notion fondamentale émerge : puisque l'énergie requise par une réaction endergonique est fournie par une classe privilégiée de composés dits « riches en énergie », il est évident que la synthèse de ces composés doit être en relation avec les différentes étapes aboutissant à l'oxydation plus ou moins complète de certains substrats. Cet aspect du problème est abordé dans les chapitres 11, 12 et 13.

A CONSULTER

CHANCE, B. et WILLIAMS, G. R., *Adv. in Enzymology*, 1956, 17, 65.

LEHNINGER, A. L., *Bioenergetics*. Benjamin, New York, 1965.

PAULING, L., *Chimie générale*, 2^e édit. Dunod, Paris, 1956.

PULLMAN, A. et PULLMAN, B., π molecular orbitals and the processes of life in P-O. Lowdin et B. Pullman : *Molecular orbitals in chemistry, physics and biology*. Academic Press, New York, 1964.

PULLMAN, B. et PULLMAN, A., *Quantum biochemistry*. Interscience Publishers, New York, 1963.

RIEDEL, J. A., *Energy, life and animal organisation*. English Univ. Press, London, 1965.

Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 1, 2. Academic Press, New York 1960.

Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 15. Elsevier Publishing Co. Amsterdam, 1964.

CHAPITRE 9

La cellule

I. La théorie cellulaire	211
II. Organisation de la cellule	215
III. L'équilibre et l'état stationnaire au sein des cellules	217
IV. Répartition des activités entre organites cellulaires	218

I. LA THÉORIE CELLULAIRE

On estime généralement que la vie a fait son apparition sur la terre il y a environ trois milliards d'années. Pendant quelque temps elle s'est manifestée par des formes dont la nature nous reste inconnue et vraisemblablement peu différenciées puis elle s'est, comme on dit parfois, « phylétisée » à l'aurore des temps Cambriens, il y a 500 millions d'années et s'est diversifiée selon les rameaux de la descendance avec modifications. Les vertébrés sont apparus, comme la paléontologie nous l'apprend, à la fin de la période silurienne. C'est en 1797 qu'Etienne Geoffroy Saint-Hilaire a reconnu l'existence d'une unité de plan des animaux. Il homologua les anneaux des articulés aux vertèbres des vertébrés : les premiers vivant à l'intérieur de leur colonne vertébrale, les seconds à l'extérieur.

Cette vue d'Etienne Geoffroy Saint-Hilaire s'insère dans une conception d'un monde où tout est donné simultanément et où ne se posent pas de problèmes d'origines. La doctrine de l'évolution est essentiellement

celle de la descendance avec modification, pour reprendre les termes de Darwin. Sans doute les organismes qui peuvent être observés à la surface de la terre se sont-ils tous modifiés depuis qu'ils sont apparus, mais au cours de la descendance d'un ancêtre déterminé, certaines formes se sont moins modifiées que d'autres sous le rapport de certains caractères qui, si on les compare avec ceux d'autres organismes situés dans la même lignée, apparaissent comme plus primitifs. L'ensemble des connaissances relatives aux organismes, accumulées à la suite des efforts des naturalistes, permet, dans cette perspective, de sérier les êtres vivants selon des caractères plus ou moins primitifs ou plus ou moins spécialisés, et de reconstituer de cette manière les degrés de spécialisation qui correspondent souvent avec des changements survenus au cours de la descendance.

On s'est ainsi ingénié à reconstituer le développement de l'évolution et on rattache par exemple les vertébrés aux échinodermes. Un arbre généalogique en forme d'Y donne une image de l'histoire des animaux. Le long de la tige de l'Y se situe un événement capital : l'association cellulaire qui donne naissance aux cœlentérés, dont font partie les anémones de mer, les méduses et les coraux. La bifurcation de l'Y correspond à l'état cœlomate, c'est-à-dire à la formation d'une cavité intestinale autonome. L'évolution du règne animal selon l'une des branches de l'Y comporte à sa base les échinodermes, tels que les oursins et les étoiles de mer, et conduit aux vertébrés, tandis que l'autre branche de l'Y traverse la grande diversité des invertébrés pour aboutir aux arthropodes et à leurs formes les plus évoluées, les insectes. Les deux branches de l'Y conduisent respectivement aux vertébrés et aux insectes, deux groupes complètement adaptés à la vie aérienne et dont les formes d'activité psychique culminent dans l'intelligence des vertébrés et dans l'instinct des insectes.

La tige de l'Y que nous venons de considérer s'enracine au milieu d'un buisson de rameaux parmi lesquels on trouve des rameaux courts comme ceux des protozoaires ou des éponges, mais aussi ceux des bactéries et des algues unicellulaires. Parmi les algues unicellulaires, un groupe, celui des chlorophytes, c'est-à-dire des algues vertes, donne le point de départ pour l'évolution d'un autre rameau beaucoup plus long et important, celui des plantes vertes.

Dans la considération de cet ensemble du buisson phylogénique, avec sa grande diversité de formes, règne un principe d'unité : tous les organismes sont constitués de cellules. La théorie cellulaire, l'une des inductions les plus fécondes de l'histoire de la biologie, a été formulée en 1839 par Théodore Schwann (1810-1882). Dans sa forme actuelle on peut formuler la théorie cellulaire, qui domine la biologie de notre temps, en sept propositions :

— Les organismes vivants sont formés d'un nombre variable d'unités microscopiques qu'on appelle des « cellules », et qui, dans leurs formes les moins spécialisées sont polyédriques ou approximativement sphériques.

— Les cellules ont des caractères définis. Elles sont toutes essentiellement de la même nature et elles sont des unités de structure, aussi bien que de fonction.

— Les cellules trouvent leur origine dans une cellule préexistante, par division.

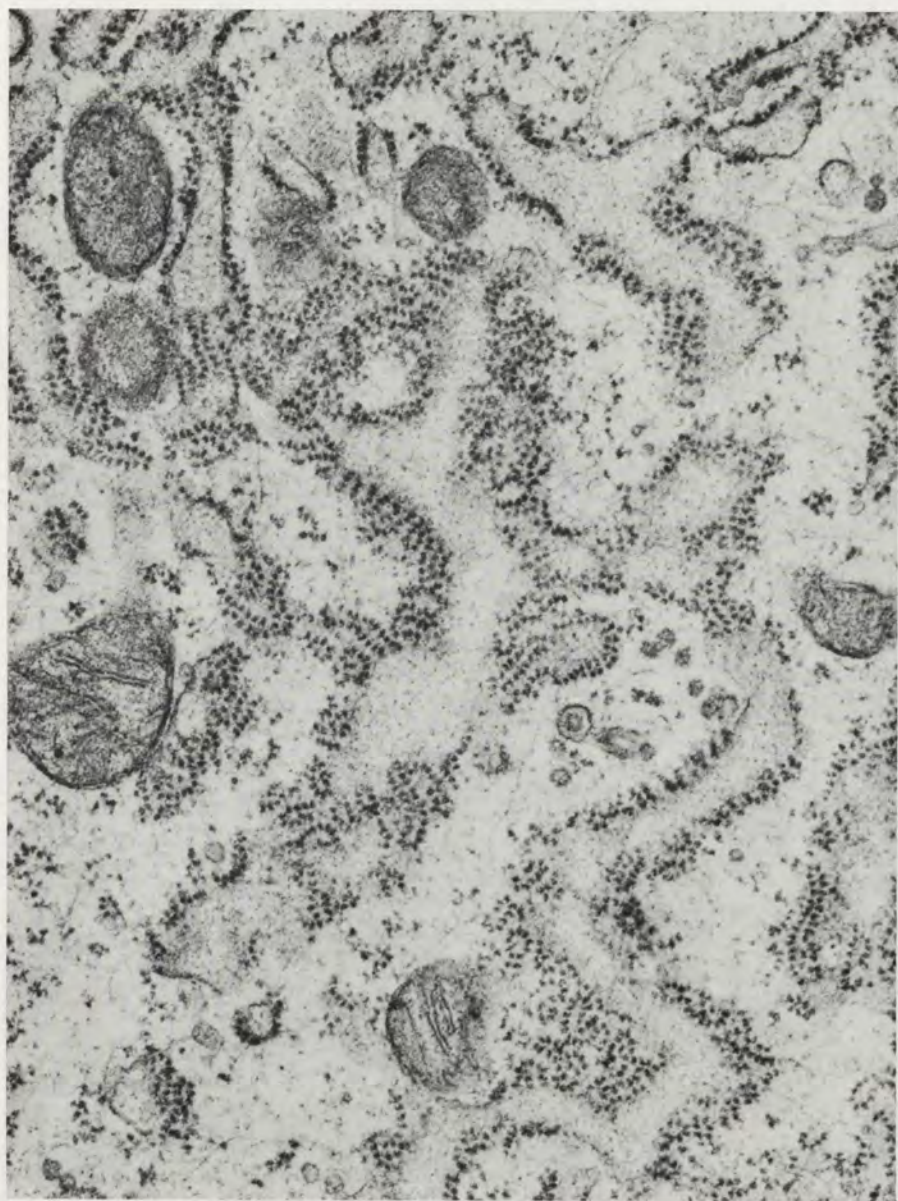


FIG. 9-1. Fibroblaste de l'hypophyse de rat. Réticulum endoplasmique de type *granulaire*. La coupe passe à travers le réticulum de telle sorte que l'on peut voir à la fois la cavité et, en profil, la face externe des parois, celles-ci portant de nombreuses formations en chaînettes : les polysomes. A l'intérieur du réticulum on trouve des protéines (globulaires) destinées à être transportées dans d'autres territoires de la cellule, ou servir à l'excrétion. Dans le cytoplasme proprement dit (espaces plus clairs dans la micrographie) se trouvent des fibrilles, certaines associées à des polysomes libres (non attachés à la membrane) ; ces fibrilles sont donc synthétisées *in situ* et interviennent dans l'élaboration de structures cellulaires, ou à utilisation locale (d'après A. Claude) $\times 60.800$.

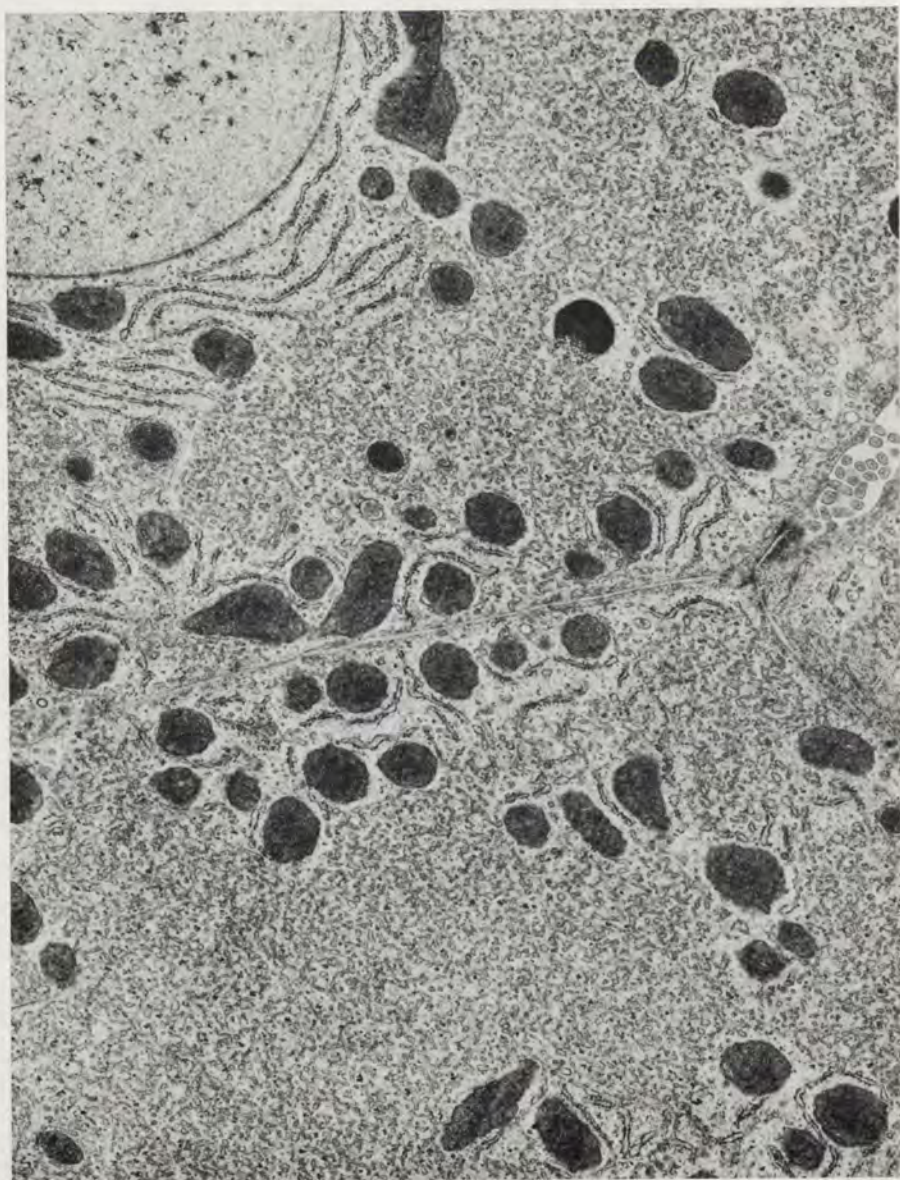


FIG. 9-2. Foie de cobaye. Parties de deux cellules dont le cytoplasme est presque entièrement occupé par des éléments du réticulum endoplasmique lisse. Quelques îlots de réticulum granulaire, notamment à proximité du noyau (coin supérieur gauche). Les corps denses sont les mitochondries (l'opacité est due à la fixation particulière utilisée, et à l'épaisseur de la coupe). La structure horizontale est constituée par l'apposition de deux membranes cellulaires. A droite, un capillaire biliaire, et villosités (d'après A. Claude) approximativement $\times 12,000$.

— Les cellules peuvent être transformées en structures qui ne possèdent plus tous les caractères des cellules, l'organisme étant constitué par des cellules, des cellules modifiées et des produits de l'activité des cellules.

— Les cellules jouissent d'un certain degré de vie individuelle et il y a, au sein d'un organisme, deux niveaux d'individualité : celui des cellules et celui de l'organisme.

— Chaque cellule entrant dans la composition d'un organisme pluricellulaire correspond sous certains rapports à l'organisme entier d'un être monocellulaire.

— Les organismes pluricellulaires tels que les animaux et les plantes dérivent historiquement de l'assemblage de produits de la division d'organismes unicellulaires.

Au sein d'un organisme, qu'il soit pluricellulaire ou monocellulaire, on peut s'attacher au niveau d'individualité de la cellule et atteindre ainsi au plus grand commun diviseur des organismes. Chaque cellule est un transformateur d'énergie utilisant notamment l'énergie d'une série de molécules de glucides, dépendant des couches électroniques externes de leurs atomes constitutifs, lesquels subissent des modifications de potentiel énergétique au cours de réarrangements moléculaires. Cette source d'énergie libre provenant de la glycolyse est présente au niveau des membranes cellulaires de la manière la plus étendue. Elle représente une forme très ancienne et très générale de source d'énergie libre, mais son apport énergétique est faible. Une autre source d'énergie libre réside dans les changements de potentiel énergétique d'électrons transférés sur les composants d'une chaîne de transmetteurs. De telles oxydo-réductions se déroulent au sein des mitochondries qui constituent, dans le cytoplasme, autant de moteurs générateurs, à côté du mécanisme signalé plus haut, de molécules d'ATP, la monnaie la plus courante des paiements énergétiques des cellules.

Il existe une autre source d'énergie libre que certaines cellules, celles qui sont pourvues de chlorophylle, sont capables d'utiliser : c'est l'énergie d'origine solaire arrivant à la surface terrestre sous la forme de lumière.

II. ORGANISATION DE LA CELLULE

La cellule des métazoaires, entourée par la membrane cellulaire, contient une série d'organites : le noyau limité par une membrane nucléaire ; le nucléole, les mitochondries ; un ensemble structuré de lamelles et de vésicules formant le réticulum endoplasmique auquel sont attachées des particules ; les ribosomes ; l'appareil de Golgi et divers types d'inclusions et de résultats de la différenciation cytoplasmique variant d'une forme cellulaire à une autre. Les cellules parenchymateuses des plantes supérieures sont en outre entourées par une paroi cellulaire, de nature polysaccharidique (cellulose). Dans leur état de complète maturité, les cellules végétales présentent un cytoplasme distribué en une couche peu épaisse le long de la membrane cellulaire, la plus grande partie de la cellule étant occupée par une vacuole, remplie d'une solution aqueuse. Le cytoplasme

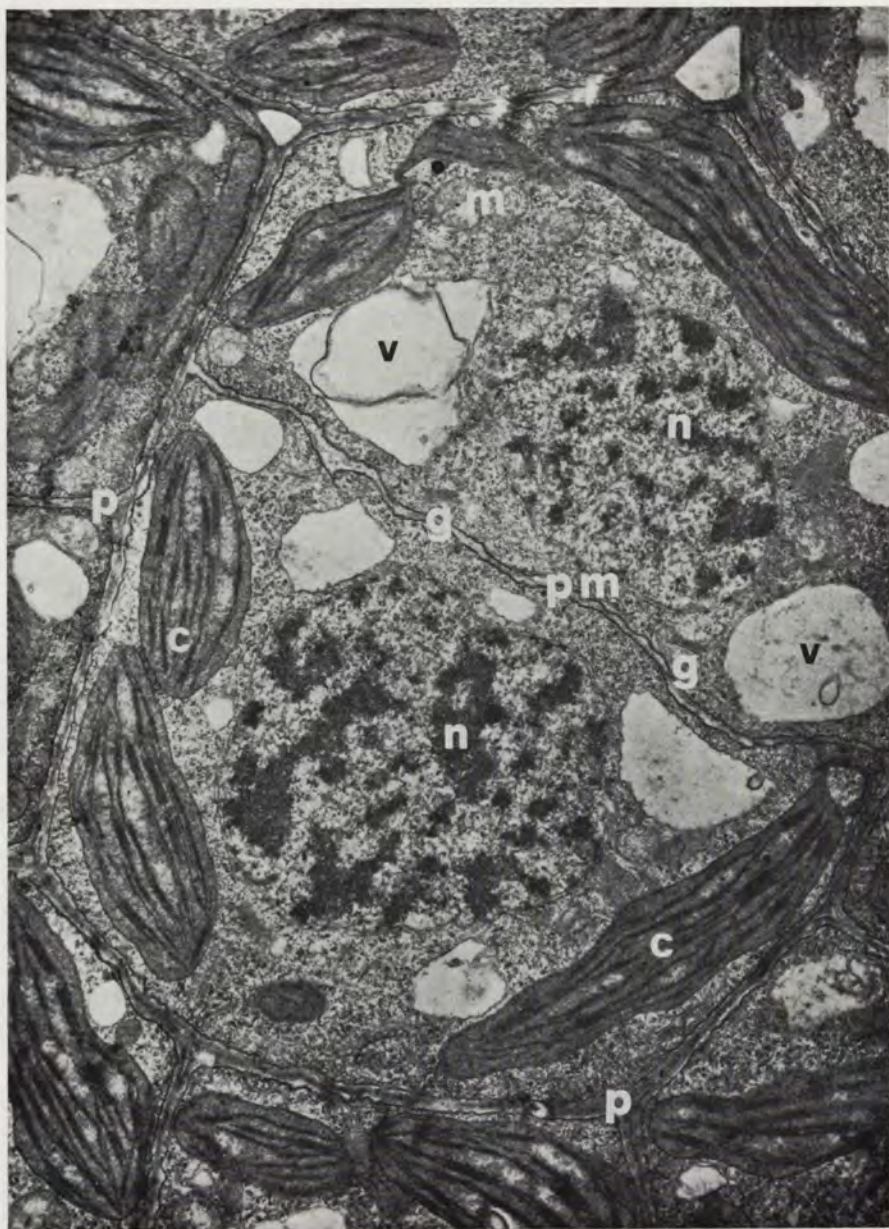


FIG. 9-3. Cellule du parenchyme chlorophyllien d'une feuille de *Perilla*. Notez la présence d'une épaisse paroi intercellulaire p (de nature polysaccharidique), de vacuoles v et de chloroplastes c avec disques granaires. Comme dans la cellule animale, on trouve le noyau n (riche en chromatine), des mitochondries m, l'appareil de Golgi g et de nombreux ribosomes (aspect granulaire du cytoplasme). Les deux cellules occupent la partie centrale de la photographie viennent de se diviser ce qui explique la faible épaisseur de la paroi cellulosique mitoyenne pm. $\times 20\,000$ (d'après Bronchart).

entoure le noyau. On trouve au sein du cytoplasme des mitochondries, sièges des processus respiratoires et des chloroplastes, sièges de la photosynthèse (Fig. 9-3). Comme les cellules végétales en général, les bactéries sont limitées par une membrane cellulaire et par une paroi rigide, elle-même souvent entourée par une capsule formée de polysaccharides et de polypeptides. Une région centrale, plus claire, et contenant l'acide désoxyribonucléique, peut être considérée comme constituant une région nucléaire, sans membrane limitante. Entre la région nucléaire et la membrane cellulaire règne le cytoplasme dans lequel sont disséminés des ribosomes (env. 100 Å de diamètre). Ces derniers ne sont pas attachés à un réticulum comme c'est le cas dans les cellules animales ou végétales. Les cellules bactériennes ne présentent pas non plus de mitochondries et le système des enzymes respiratoires est situé au niveau de la membrane cellulaire. Une bactérie est à peu près de la dimension d'une mitochondrie et les deux structures ont beaucoup de traits communs, y compris la présence de DNA. Ces similitudes ont conduit certains auteurs à admettre que les mitochondries sont des descendants de microorganismes en relation symbiotique avec les cellules. C'est dans la membrane cellulaire que réside le mécanisme des phosphorylations de la chaîne respiratoire chez les bactéries et on peut imaginer qu'à partir de cellules présentant la structure de ces bactéries se soient développées des cellules plus volumineuses auxquelles les phosphorylations de la chaîne respiratoire au niveau de la membrane cellulaire n'auraient plus suffi. D'autres bactéries auraient pu assurer ce développement par leur relation symbiotique avec la cellule, relation traduite notamment par la perte de la pathogénicité et par la livraison à la cellule de l'ATP synthétisé au sein des symbiotes devenus mitochondries.

III. L'ÉQUILIBRE ET L'ÉTAT STATIONNAIRE AU SEIN DES CELLULES

Un organisme réclame une fourniture d'énergie en excès sur ce qui est exigé par le travail qu'impose le milieu (mouvements, etc.). Cette constatation s'applique même par exemple à un animal adulte conservant un poids constant et une composition chimique fixe dans un milieu isothermique. Cet excès d'énergie est employé au maintien du corps dans un état éloigné de l'équilibre. Une cellule contient, par exemple, des quantités importantes de polysaccharides, de protéines, de lipides et d'acides nucléiques en présence de quantités relativement petites de leurs monomères : monoses, acides aminés, etc. Dans l'état d'équilibre, en présence des enzymes appropriés, la situation serait toute différente.

La composition ionique des liquides extracellulaires est différente de celle des liquides intracellulaires, en dépit de la perméabilité des membranes cellulaires aux espèces ioniques considérées. L'énergie libre libérée au sein de la cellule est en partie utilisée pour la synthèse des protéines, des polysaccharides, des lipides, etc., à une vitesse égale à celle de leur dégradation. De l'énergie est aussi utilisée pour maintenir les gradients de concentrations ioniques. Si les grosses molécules (polymères)

étaient hydrolysées ou si les ions diffusaient selon le sens commandé par les gradients de concentration, l'énergie qui en résulterait serait perdue par suite du changement d'entropie et du défaut de moyen adéquat pour l'utilisation de l'énergie libérée. Comme les vitesses des réactions sont les mêmes dans le sens de la libération d'énergie libre et dans celui de son utilisation, l'énergie transformée apparaît finalement sous forme de chaleur, et le système est maintenu dans un état qui s'écarte de l'équilibre. Si la fourniture d'énergie ou d'oxygène s'arrête, la tendance à l'équilibre n'est pas contrebalancée et l'équilibre s'établit, se traduisant par l'autolyse post mortem.

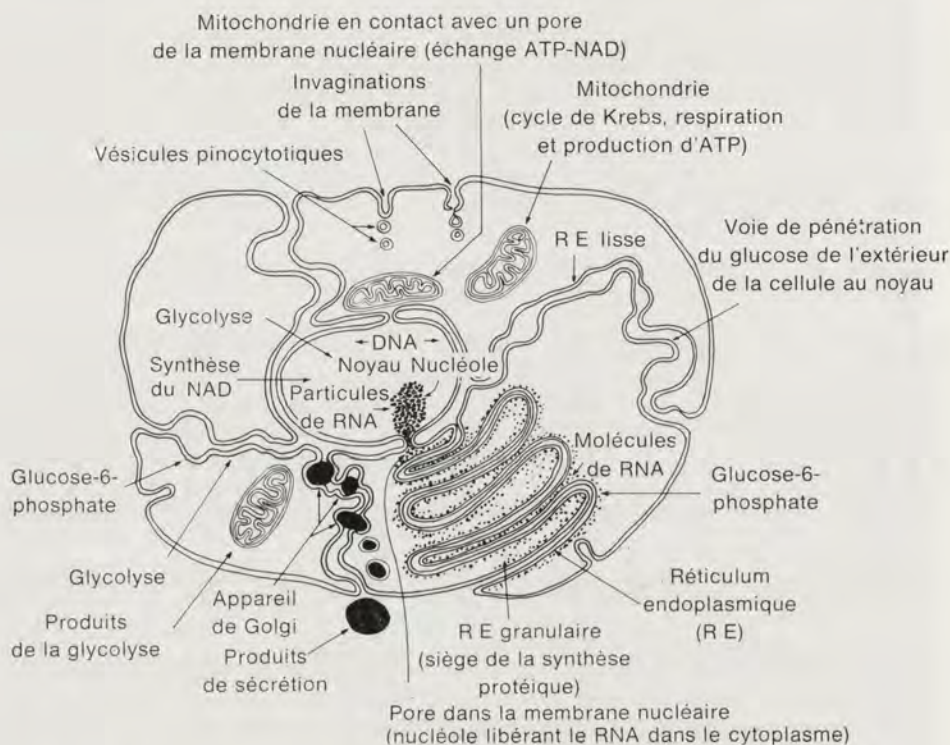


FIG. 9-4. Représentation schématique d'une cellule mettant en évidence la répartition des activités entre organites cellulaires (d'après Bourne).

IV. RÉPARTITION DES ACTIVITÉS ENTRE ORGANITES CELLULAIRES

Dans une cellule en état de résistance à l'établissement de l'équilibre, la portion constituant le noyau est surtout composée par la chromatine formant un réseau dans les espaces duquel est situé le suc nucléaire. Le noyau contient deux espèces d'acides nucléiques (DNA et RNA), des protéines basiques (histones), d'autres protéines et notamment des enzymes,

des phospholipides, divers dérivés de phosphates et des constituants inorganiques. Parmi les enzymes du noyau (Tableau 9-1), on trouve la série du système de la glycolyse et celle du métabolisme des nucléotides. Le cycle de Krebs est incomplet : certains de ses enzymes manquent totalement bien que d'autres, telle l'aconitase, soient en concentration importante, de même que le cytochrome c. Cet inventaire représente le noyau comme inapte à synthétiser les ATP, fonction dans laquelle les mitochondries jouent le rôle dominant. Il montre que le noyau est essentiellement le siège de la dégradation et de la synthèse des nucléotides, avec une dominance très marquée de la synthèse du DNA.

Tableau 9-1

ENZYMES DU NOYAU DES CELLULES HÉPATIQUES DE RAT

Les chiffres exprimés en % indiquent l'activité localisée au noyau
par rapport à celle de l'homogénat total
(d'après Bourne)

Glycolyse		Cycle de Krebs et système des phosphorylations de la chaîne respiratoire	
aldolase	5-31	aconitase	8-14
fructose-6-phosphatase	2	aconitase (cortex cérébral)	22.5
glucose-1-phosphatase	(0)	déshydrogénase isocitrique	2-3
glyceraldéhyde déshydrogénase	(faible)	id. (cortex cérébral)	14.1
α -glycérophosphate déshydrogénase	jusqu'à 22.3	cytochrome c	26.3
hexose diphosphatase	(0)	cytochrome oxydase	de faibles concentrations à 16.5
pyruvate oxydase	jusqu'à 15.4	NAD cytochrome c réductase	12
Métabolisme nucléotidique		NAD synthétase	69-92
adénosine désaminase	2.08	fumarase	jusqu'à 9.3
adénosine-3-phosphatase	traces	oxydase α -cétoglutarique	trace
adénosine-5-phosphatase (5 nucléotidase)	48	déshydrogénase malique	trace
ATPase	10-34	déshydrogénase succinique	trace
DNAase	6.9	NADP cytochrome c réductase	jusqu'à 12
DNAase (thymus)	37	Métabolisme protéique	
nucléoside phosphorylase	présente	aminoxydase	20-30
ribonucléase	13.8-49	C-aminoacide oxydase	(présente)
Métabolisme lipidique		arginase	36
octanoate oxydase	2.8	cathepsine	31.2
oxaloacétate oxydase	jusqu'à 10.5	glutaminase	14.5
		leucine amidase	14.0
		déshydrogénase glutamique	28

Le nucléole apparaît comme le siège d'une active synthèse de RNA qu'il déverse dans le cytoplasme.

Pendant le processus de la mitose, le réticulum de chromatine du noyau s'individualise en chromosomes, dont les diverses régions correspondent aux gènes, formés de DNA. Les gènes ont pu être reconnus au niveau du réticulum de chromatine dans les périodes séparant celles de l'individualisation des chromosomes.

La synthèse protéique au niveau des ribosomes apparaît, ainsi que nous le verrons, comme régie par des molécules de RNA provenant du noyau et amenées dans le cytoplasme. Il est certain que des molécules synthétisées sous le contrôle du DNA des gènes jouent un rôle très important dans le développement embryonnaire et dans la différenciation cellulaire. Il est possible que les ribosomes fixés sur le réticulum endoplasmique soient d'origine nucléaire (nucléole) et que le noyau exerce en outre une régulation au niveau du réticulum cytoplasmique et sur ses fonctions par l'envoi dans le cytoplasme de formes diverses de RNA. Les mitochondries et les chloroplastes échappent à ce contrôle et possèdent leurs propres DNA.

D'autre part, on sait que les mitochondries, au cours de leurs lents déplacements au sein du cytoplasme, viennent aborder la paroi nucléaire et peut-être y déversent des ATP, recevant en échange des molécules de NAD. La cellule apparaît dans cette perspective comme formée d'une équipe d'organites cellulaires aux fonctions définies et dont la mise en jeu coordonnée conditionne la vie cellulaire, laquelle peut être définie par une série d'attributs :

- 1) Comme n'importe quelle autre machine, la cellule obéit aux lois de la thermodynamique.

- 2) Il y a couplage entre réactions anaboliques et cataboliques grâce à l'existence de substances, les phosphates « riches en énergie », jouant le rôle d'intermédiaires et capables de capter l'énergie d'une réaction exergonique, énergie qui autrement se serait dissipée sous forme de chaleur.

- 3) Les réactions chimiques qui sont à l'origine de l'activité de la cellule sont catalysées par des enzymes.

- 4) Les espèces moléculaires entrant dans la composition des cellules ont des propriétés particulières dépendant de leur structure électronique et qui sont examinées dans les chapitres suivants.

- 5) Le maintien de la vie de la cellule dépend du maintien d'un état écarté de l'état d'équilibre, avec pour conséquence une fourniture constante d'entropie à l'univers.

- 6) La vie cellulaire résulte de relations d'échanges entre une série d'organites qui peuvent être individualisés au sein de la cellule.

A CONSULTER

BOURNE, G. H., Division of labor in cells. 2^e édit. Academic Press, New York, 1963

CHAPITRE 10

La membrane cellulaire et le réticulum endoplasmique

I. Les lipides et leurs constituants	223
A. Acides aliphatiques	223
1. Série forménique (acides gras saturés).	224
2. Acides gras non saturés	224
a) monoéthyléniques	224
b) diéthyléniques, triéthyléniques, polyéthyléniques.	226
3. Acides aliphatiques ramifiés	226
4. Acides bibasiques ou polybasiques	226
5. Acides-alcools et polyacides-alcools	227
a) monoalcools monoacides	227
b) polyalcools monoacides	228
c) monoalcools polyacides	228
d) polyalcools polyacides	228
6. Acides-aldéhydes	228
7. Acides-cétones	228
B. Lipides ternaires	230
1. Glycérides	230
a) exemples de glycérides	230
b) propriétés des glycérides	231
c) graisses ou corps gras	232
2. Cérides	233
3. Stérides	233
C. Lipides complexes	234
1. Glycérophosphatides	234
a) lécithines ou phosphatidylcholines	234
b) céphalines ou phosphatidyléthanolamines	235
c) phosphatidylsérines	235
d) plasmalogènes	235
e) phosphoinositides	236
2. Sphingolipides	236
a) sphingomyélines ou phosphosphingosides	236
b) cérébrosides	236
II. Composition chimique des membranes cellulaires	237
III. Ultrastructure des films lipidiques	244

IV. Phénomènes électriques aux interfaces	248
V. Ultrastructure des membranes cellulaires	249
A. Résultats de l'analyse directe	249
B. Résultats de l'étude fonctionnelle	253
VI. Utilisation de l'énergie libre dans les membranes cellulaires	255
A. Biosynthèse des acides gras	255
B. Biosynthèse des triglycérides	256
C. Biosynthèse des phosphatides	257
1. Phosphatidylsérines	257
2. Phosphatidylinositols	258
3. Phosphatidyléthanolamines	258
4. Phosphatidylcholines	259
5. Plasmalogènes	260
6. Sphingomyélines	260
7. Cérébrosides	260
D. Catabolisme des phosphatides	260
E. Rôle des membranes cellulaires dans la synthèse des protéines (voir chapitre 16)	261
F. Les membranes cellulaires et les métabolismes primaire et secondaire (voir chapitre 15)	261
G. Le transport actif	261
1. Définition	261
2. Source directe d'énergie dans le transport actif	264
3. Relation entre l'hydrolyse de l'ATP et le transport actif des cations	264
H. Origine des potentiels bioélectriques	266

L'existence d'une barrière fonctionnelle, différenciée limitant le cytoplasme, a longtemps fait l'objet de controverses. Les mesures électriques de résistance, d'impédance, de capacitance, de potentiel, de même que l'étude des phénomènes de diffusion et de surface, démontrent que le milieu extracellulaire est séparé de l'intérieur de la cellule par une barrière qui oppose au déplacement de l'eau, des ions et des molécules, une résistance plus élevée que celle des liquides intra- et extracellulaires.

Les propriétés électriques des nerfs montrent d'ailleurs que nous avons affaire à une structure formée d'un noyau central de faible résistance électrique entouré d'un élément se comportant comme une capacité mal isolée. Les progrès récents de la microscopie, tant photonique qu'électronique, sont également en faveur de l'existence à la surface de la cellule

d'une entité morphologique distincte et clairement différenciée qui envoie à l'intérieur de la cellule un riche réseau de membranes : le réticulum endoplasmique.

L'étude de la composition chimique des membranes cellulaires montre qu'elles sont constituées par une association de lipides et de protéines à laquelle d'importantes fonctions sont dévolues. Outre les phénomènes électriques et de transport actif, les membranes cellulaires sont le siège de séquences métaboliques variées dont la glycolyse, la biosynthèse des lipides et celle des protéines sont les plus importantes. Dans les pages qui suivent nous allons résumer l'essentiel des connaissances actuelles en matière de biologie moléculaire des membranes vivantes, ce qui nous permettra d'établir certaines relations entre la structure et la fonction de cet important organe cellulaire.

Ce progrès a été rendu possible grâce aux développements récents des méthodes permettant de déterminer l'ultrastructure des espèces macromoléculaires jouant un rôle important dans le fonctionnement de la cellule. En associant ces résultats à ceux de la biochimie classique, le fossé séparant la réaction réalisée dans un tube à essai de la fonction cellulaire, s'est progressivement comblé, par la mise en évidence de l'organisation spatiale des séquences enzymatiques au niveau des structures subcellulaires. Les exemples les plus démonstratifs sont fournis par la considération de la glycolyse, de l'oxydation des acides gras, de la chaîne respiratoire, etc.

Dans le cas de la membrane cellulaire, la situation est un peu différente.

L'étude de sa structure a été abordée il y a de nombreuses années. C'est en effet Overton qui le premier a eu l'idée, en 1895, d'établir une corrélation entre les propriétés physico-chimiques d'une molécule, et plus particulièrement sa solubilité dans les lipides, et la structure de la membrane cellulaire⁽¹⁾.

C'est pourquoi on a suggéré très tôt que la membrane cellulaire devait être composée de lipides.

L'étude des films monomoléculaires d'acide gras, de lipides, etc., a alors permis de proposer avant la deuxième guerre mondiale un modèle de la membrane cellulaire qui est encore à la base de nos conceptions actuelles en matière d'organisation et d'ultrastructure de cet important organe cellulaire.

Les concepts sur lesquels repose l'appellation toute récente de biologie moléculaire étaient donc déjà largement appliqués à l'étude des relations existant entre la structure et la fonction d'une membrane vivante.

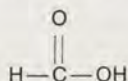
I. LES LIPIDES ET LEURS CONSTITUANTS

A. ACIDES ALIPHATIQUES

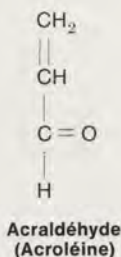
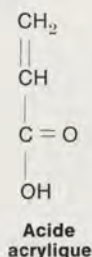
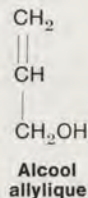
Les acides organiques aliphatiques sont très répandus dans la biosphère, et en particulier dans les substances grasses, c'est pourquoi on les appelle « acides gras ».

(1) A ce titre il doit donc être considéré comme le fondateur de la biologie moléculaire.

Leur premier terme dans la série forménique est l'acide formique



correspondant au méthane CH_4 , et leur premier terme dans la série éthylénique est l'acide acrylique, correspondant au propène, à l'alcool allylique et à l'acraldéhyde (acroléine).



1. Série forménique (acides gras saturés)

Ils constituent une série homologue de formule générale RCO_2H , dans laquelle R représente une chaîne aliphatique de la forme $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x$ ou $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$. Les premiers termes sont des liquides volatils. Ceux ayant de six à neuf atomes de carbone sont des liquides huileux. Quand le nombre d'atomes de carbone égale ou dépasse dix, la substance est solide.

Les premiers termes sont très solubles dans l'eau, en se dissociant faiblement. La solubilité diminue quand augmente le nombre d'atomes de carbone.

Outre l'acide formique et l'acide propionique, on trouve dans les organismes tous les acides gras saturés à nombre pair de carbones allant de 2 à 38. On trouvera dans le tableau 10-1 leurs noms scientifiques, leurs noms vulgaires, leurs formules brutes et leurs poids moléculaires.

2. Acides gras non saturés

S'il est vrai que les acides gras saturés non ramifiés constituent une série homologue parfaite représentée dans la biosphère par ses membres à nombre pair de carbones compris entre 2 et 18 (outre l'acide formique et l'acide propionique), les acides gras non saturés offrent la complexité qu'introduit la présence d'une ou de plusieurs liaisons doubles, ajoutant diverses formes de réactions : halogénéation, hydrogénation, etc.

On classe généralement les acides gras non saturés, selon le nombre de leurs liaisons doubles, en monoéthyléniques, diéthyléniques, triéthyléniques et polyéthyléniques.

a) Monoéthyléniques

Ce sont les acides aliphatiques de la série éthylénique. Comme les hydrocarbures, ils sont nommés d'après le nombre de carbones et le

carbone du carboxyle porte le numéro un. La présence de la liaison double est indiquée par le suffixe -ène, tandis que sa position se traduit par un préfixe chiffré, dont les deux chiffres désignent les deux carbones liés

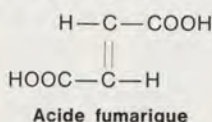
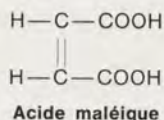
Tableau 10-1

ACIDES GRAS SATURÉS $C_nH_{2n}O_2$ (NATURELS ET NON NATURELS)

Nom systématique	Nom vulgaire	Formule	P. M.
<i>n</i> -Méthanoïque, méthoïque	Formique	HCOOH	46.03
<i>n</i> -Ethanoïque, éthoïque	Acétique	CH ₃ COOH	60.05
<i>n</i> -Propanoïque, propoïque	Propionique	C ₂ H ₅ COOH	74.08
<i>n</i> -Butanoïque, butoïque	Butyrique	C ₃ H ₇ COOH	88.10
<i>n</i> -Pentanoïque, pentoïque	Valérique	C ₄ H ₉ COOH	102.13
<i>n</i> -Hexanoïque, hexoïque	Caproïque	C ₅ H ₁₁ COOH	116.15
<i>n</i> -Heptanoïque, heptoïque	Heptylique	C ₆ H ₁₃ COOH	130.18
<i>n</i> -Octanoïque, octoïque	Caprylique	C ₇ H ₁₅ COOH	144.21
<i>n</i> -Nonanoïque, nonoïque	Nonylique	C ₈ H ₁₇ COOH	158.23
<i>n</i> -Décanoïque, décoïque	Caprique	C ₉ H ₁₉ COOH	172.26
<i>n</i> -Undécanoïque, undécoïque	Undécylique	C ₁₀ H ₂₁ COOH	186.29
<i>n</i> -Dodécanoïque, dodécoïque	Laurique	C ₁₁ H ₂₃ COOH	200.31
<i>n</i> -Tridécanoïque, tridécoïque	Tridécylique	C ₁₂ H ₂₅ COOH	214.34
<i>n</i> -Tétradécanoïque, tétradécoïque	Myristique	C ₁₃ H ₂₇ COOH	228.36
<i>n</i> -Pentadécanoïque, pentadécoïque	Pentadécylique	C ₁₄ H ₂₉ COOH	242.39
<i>n</i> -Hexadécanoïque, hexadécoïque	Palmitique	C ₁₅ H ₃₁ COOH	256.42
<i>n</i> -Heptadécanoïque, heptadécoïque	Margarique	C ₁₆ H ₃₃ COOH	270.44
<i>n</i> -Octadécanoïque, octadécoïque	Stéarique	C ₁₇ H ₃₅ COOH	284.47
<i>n</i> -Nonadécanoïque, nonadécoïque	Nonadécylique	C ₁₈ H ₃₇ COOH	298.49
<i>n</i> -Eicosanoïque, eicosoïque	Arachidique	C ₁₉ H ₃₉ COOH	312.52
<i>n</i> -Henéicosanoïque, henéicosoïque	...	C ₂₀ H ₄₁ COOH	326.55
<i>n</i> -Docosanoïque, docosoïque	Béhénique	C ₂₁ H ₄₃ COOH	340.57
<i>n</i> -Tricosanoïque, tricosoïque	...	C ₂₂ H ₄₅ COOH	354.60
<i>n</i> -Tétracosanoïque, tétracosoïque	Lignocérique	C ₂₃ H ₄₇ COOH	368.62
<i>n</i> -Pentacosanoïque, pentacosoïque	...	C ₂₄ H ₄₉ COOH	382.65
<i>n</i> -Hexacosanoïque, hexacossoïque	Cérotique	C ₂₅ H ₅₁ COOH	396.68
<i>n</i> -Heptacosanoïque, heptacossoïque	...	C ₂₆ H ₅₃ COOH	410.70
<i>n</i> -Octacosanoïque, octacossoïque	Montanique	C ₂₇ H ₅₅ COOH	424.73
<i>n</i> -Nonacosanoïque, nonacossoïque	...	C ₂₈ H ₅₇ COOH	438.75
<i>n</i> -Triacontanoïque, triacontsoïque	Mélistique	C ₂₉ H ₅₉ COOH	452.78
<i>n</i> -Hentriacontanoïque, hentriacontsoïque	...	C ₃₀ H ₆₁ COOH	466.80
<i>n</i> -Dotriacontanoïque, dotriacontsoïque	...	C ₃₁ H ₆₃ COOH	480.83
<i>n</i> -Tritriacontanoïque, tritriacontsoïque	...	C ₃₂ H ₆₅ COOH	494.86
<i>n</i> -Tétratriacontanoïque, tétratriacontsoïque	...	C ₃₃ H ₆₇ COOH	508.88
<i>n</i> -Pentatriacontanoïque, pentatriacontsoïque	...	C ₃₄ H ₆₉ COOH	522.91
<i>n</i> -Hexatriacontanoïque, hexatriacontsoïque	...	C ₃₅ H ₇₁ COOH	536.94
<i>n</i> -Heptatriacontanoïque, heptatriacontsoïque	...	C ₃₆ H ₇₃ COOH	550.96
<i>n</i> -Octatriacontanoïque, octatriacontsoïque	...	C ₃₇ H ₇₅ COOH	564.99

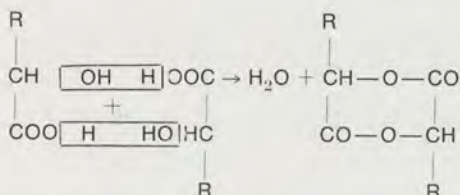
par la liaison double. Ainsi, l'acide dont le nom vulgaire est acide oléique, $C_{18}H_{34}O_2$, porte le nom scientifique de 9,10-octadécénoïque ou encore, en abrégé, 9-octadécénoïque. C'est le plus généralement répandu des acides

L'acide fumarique $\text{COOH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$, chauffé à 140° en vase clos avec un peu d'eau, fournit son isomère l'acide maléique.

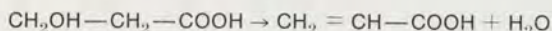


5. Acides-alcools et polyacides-alcools

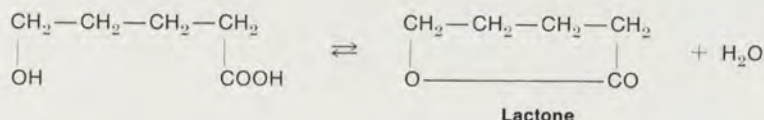
L'acide lactique $\text{CH}_3\cdot\text{CHOH}\cdot\text{COOH}$ est l'un des plus communs dans la biosphère. Quand on chauffe un acide-alcool, il perd facilement de l'eau, mais les modalités de la réaction sont différentes, selon la position relative du carboxyle et de l'oxyhydre alcoolique. Quand ils sont en position 1-2 comme dans l'acide lactique, il se forme un hétérocyclique oxygéné nommé lactide :



Quand les carboxyle et oxyhydre alcoolique sont en position 1-3, le chauffage produit un acide éthylénique :



Quand les deux fonctions sont en 1-4 ou 1-5, il se forme un ester interne ou lactone



a) Monoalcools monoacides

Ils apparaissent fréquemment au cours des processus de dégradation des aliments cellulaires.

Le plus simple est l'acide glycolique $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{COOH}$.

L'acide lactique peut exister sous les formes de deux isomères de position, l'acide lactique primaire ou β -lactique $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$ et l'acide lactique secondaire ou α -lactique $\text{CH}_3\cdot\text{CHOH}\cdot\text{COOH}$. Ce dernier contenant un carbone asymétrique, il existe sous la forme d'un isomère droit et d'un isomère gauche.

La biosphère ne contient, en fait de dérivés alcooliques de l'acide butyrique, que l'acide β -oxybutyrique $\text{CH}_3\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$. Un intéressant monoalcool monoacide est l'un des acides entrant dans la composition des cérebrosides, l'acide hydroxylignocérique $\text{C}_{22}\text{H}_{45}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{COOH}$.

b) *Polyalcools monoacides*

Le plus simple est l'acide glycérique $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{COOH}$. On peut, par oxydation des glucides, préparer autant de polyalcools monoacides, en particulier à partir des aldoses, dont la fonction aldéhydique est beaucoup plus facilement oxydable que la fonction cétonique des cétooses.

c) *Monoalcools polyacides*

Le plus simple est l'acide tartronique $\text{COOH}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{COOH}$, qui est un produit d'oxydation du glycérol $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$, de l'acide malonique $\text{COOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$ et de l'acide tartrique.

Deux autres représentants de cette catégorie jouent un rôle important dans la chimie de la biosphère. Ce sont l'acide malique $\text{COOH}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$, qui fournit par oxydation de l'acide malonique et qui se transforme par perte d'eau en acides maléique et fumarique, et l'acide citrique $\text{COOH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{C}(\text{OH})(\text{COOH})\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$, qui est un monoalcool triacide. Il se déshydrate à 175° en acide aconitique $\text{COOH}\cdot\text{CH}:\text{C}(\text{COOH})\cdot\text{CH}_2\cdot\text{COOH}$.

d) *Polyalcools polyacides*

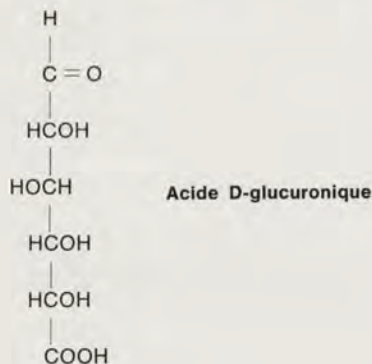
Il existe dans la biosphère une série de polyalcools polyacides dérivés des glucides par oxydation.

6. Acides-aldéhydes

Le plus simple, $\text{COOH}\cdot\text{CHO}$, est l'acide glyoxylique, que le chimiste prépare par réduction de l'acide oxalique $\text{COOH}\cdot\text{COOH}$ ou par oxydation du glycol $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$.

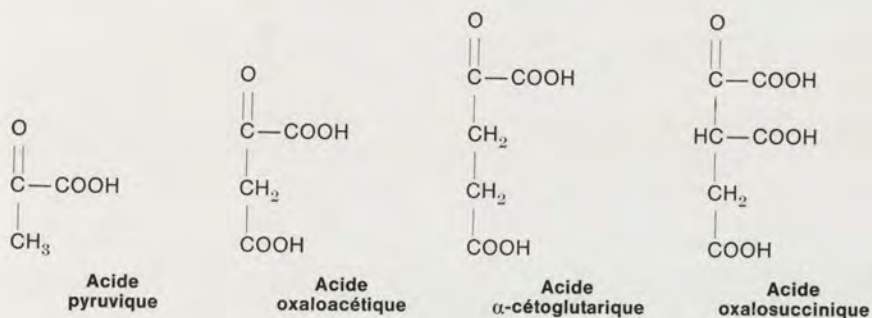
Les acides uroniques sont des dérivés des aldoses par oxydation en carboxyle de la fonction alcool primaire.

L'acide glucuronique, très répandu dans la biosphère, est l'acide uronique dérivant du glucose.

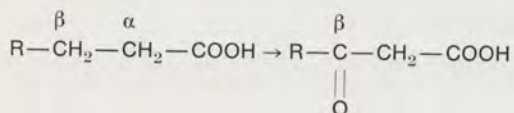
**7. Acides-cétones**

On distingue les acides monocétoniques par la mention α , β , γ , δ , etc. selon la position de la fonction cétone par rapport à la fonction acide.

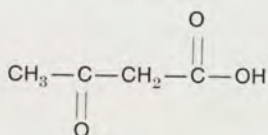
Le chimiste organicien les prépare en oxydant les acides-alcools correspondants, ou en hydratant les nitriles cétoniques correspondants. Il prépare, par exemple, l'acide pyruvique $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{COOH}$ en hydratant $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CN}$. Les plus importants des acides α -cétoniques des cellules sont les suivants : pyruvique, oxaloacétique, α -cétoglutarique et oxalosuccinique et leur décarboxylation est la source majeure du CO_2 libéré par les phénomènes de respiration.



Aux différents acides gras correspondent des acides β -cétoniques selon la formule générale :



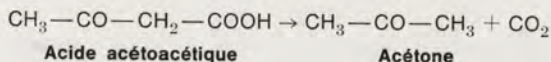
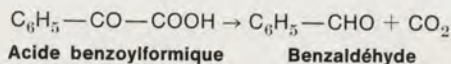
Le plus simple des acides β -cétoniques est l'acide acétoacétique



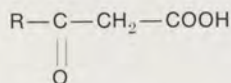
Acide acétoacétique

Une propriété générale des acides cétoniques est la fixation de l'hydrogène naissant sur la fonction cétone, avec formation d'acides-alcools secondaires. D'autre part l'action de la chaleur diffère chez les acides α -cétoniques et chez les β -cétoniques. Chez les premiers le CO_2 est perdu avec formation d'un aldéhyde, tandis que chez les seconds, c'est une cétone qui se forme.

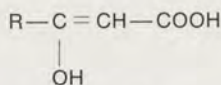
Exemples :



Les acides cétoniques peuvent exister sous la forme cétonique et sous la forme énolique :



Forme cétonique



Forme énolique

B. LIPIDES TERNAIRES

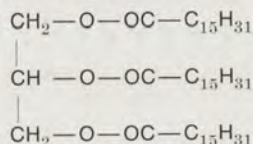
Les lipides sont des esters constituant des matières grasses et esters analogues. On distingue les lipides ternaires, contenant seulement du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, des lipides complexes, contenant en outre du phosphore et de l'azote.

On répartit les lipides ternaires en plusieurs catégories, parmi lesquelles :

1. Les glycérides, esters du glycérol.
2. Les cériques, esters d'alcools supérieurs.
3. Les stérides, esters de stérols.

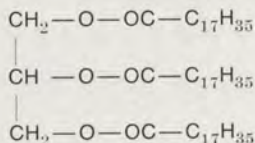
1. Glycérides

a) Exemples de glycérides



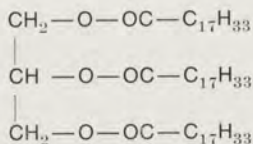
Tripalmitine

(1 molécule de glycérol + 3 molécules d'acide palmitique, acide saturé) fond vers 65° et est par conséquent solide à la température ordinaire.



Tristéarine

(1 molécule de glycérol + 3 molécules d'acide stéarique, acide saturé) fond à 71°, donc solide à la température ordinaire.

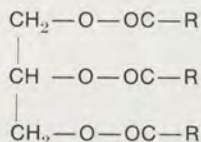


Trioléine

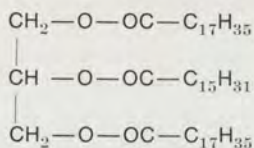
(1 molécule de glycérol + 3 molécules d'acide oléique, acide non saturé) fond à -6°, donc liquide à la température ordinaire.

Ces trois glycérides sont des glycérides simples, c'est-à-dire des glycérides dans lesquels les trois molécules d'acide, qui prennent la place

de l'atome H de chacun des groupements OH du glycérol, sont identiques. La formule générale des glycérides simples est donc la suivante :



Dans certains autres glycérides, les glycérides mixtes, les trois molécules d'acides gras ne sont pas identiques, par exemple, dans la distéaropalmitine :



Distéaropalmitine

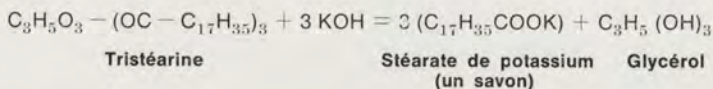
(1 molécule de glycérol + 2 molécules d'acide stéarique + 1 molécule d'acide palmitique).

b) Propriétés des glycérides

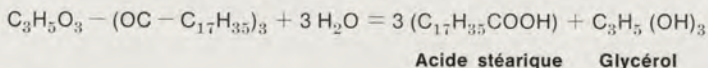
Les glycérides sont insolubles dans l'eau. Ils sont solubles dans l'éther, le benzène, le chloroforme, l'alcool chaud, le sulfure de carbone, etc. Ils sont en général insolubles dans l'alcool froid. Les glycérides ne sont pas volatils. Quand on les chauffe, ils se décomposent, vers 300°, avec formation d'une série de produits, parmi lesquels des hydrocarbures volatils et de l'acroléine dérivée du glycérol. Cette dernière est surtout abondante si on chauffe le glycéride en présence d'un déshydratant.

Les glycérides sont des substances neutres. Si on fait agir sur un glycéride une base, il se décompose (comme tout ester) en régénérant ses constituants, glycérol et acide gras (sous forme d'un sel ou savon). Cette opération porte le nom de saponification.

Exemple :



On donne aussi, par extension, le nom de saponification à la décomposition, sous l'influence de l'eau surchauffée, ou, à la température ordinaire, sous l'influence d'une lipase, du glycéride en glycérol et acides gras.



Les glycérides, dans la constitution desquels entrent des acides gras non saturés, ont, comme ces derniers, la propriété de donner des dérivés

halogénés par fixation de deux atomes d'élément halogène (p. ex. l'iode) sur chaque liaison double.

c) *Graisses ou corps gras*

Les corps gras sont des mélanges de glycérides. Exemples : beurre, graisse de porc, graisse de bœuf, graisse humaine, huile de foie de morue, huile d'olive, huile de lin, etc.

La graisse humaine, matière de réserve accumulée dans les cellules de certains tissus, est un mélange de trois glycérides simples : trioléine, tristéarine, tripalmitine, et de plusieurs glycérides mixtes : dioléopalmitine, distéaropalmitine, distéarooléine, etc. Sa constitution varie avec l'âge, le climat et aussi, à l'intérieur d'un même individu, d'un organe à l'autre. La trioléine domine chez les individus vivant dans les climats froids et dans les parties du corps exposées au refroidissement. La graisse de l'homme fond entre 15 et 27°, suivant les organes. Elle est donc liquide à la température du corps : elle coule sous le scalpel du chirurgien.

Les corps gras étant des mélanges, leurs propriétés sont des résultantes : elles dépendent de la nature des glycérides constituants et aussi des proportions relatives de ces derniers.

i) *Point de fusion*

La graisse d'oie fond à une température plus basse que la graisse de bœuf ; et cette dernière a un point de fusion plus bas que celle du mouton. Plus un corps gras contient de trioléine, plus bas est son point de fusion. L'huile d'olive est de la trioléine presque pure. Elle est liquide à la température ordinaire.

ii) *Indice d'iode*

Nous avons vu que sur les doubles liaisons des acides gras non saturés et des glycérides qui en contiennent, on peut fixer des atomes d'iode. La trioléine, par exemple, fixera six atomes d'iode sur sa molécule, et la dioléopalmitine en fixera quatre. Par contre, la tripalmitine ne fixe pas d'iode. La quantité d'iode absorbée par une quantité donnée d'un corps gras sera par conséquent une caractéristique de sa composition, et en quelque sorte la mesure de son « insaturation ».

L'indice d'iode d'un corps gras est le nombre de grammes d'iode que fixent 100 g de ce corps gras.

iii) *Indice de saponification*

Comme on l'a vu plus haut, l'action d'une base sur un glycéride décompose ce dernier en glycérol et sels d'acides gras ou savons (un seul savon dans le cas d'un glycéride simple, deux ou trois dans le cas d'un glycéride mixte). La transformation requiert trois molécules de base par molécule de glycéride. Pour une quantité donnée de corps gras (mélange de glycérides), la quantité de KOH nécessaire pour accomplir la saponification sera d'autant plus grande que les molécules des glycérides constituants seront plus petites. L'indice de saponification d'une graisse est le nombre de mg de KOH nécessaire pour accomplir la saponification d'un gramme de graisse. Le beurre a un indice de saponification relativement élevé : il contient une forte proportion d'acides gras inférieurs. Celui de l'huile de

coco est encore plus grand. Le lard, la graisse de mouton, l'huile de foie de morue ont, par contre, des indices de saponification relativement faibles : ils contiennent une forte proportion d'acides gras supérieurs.

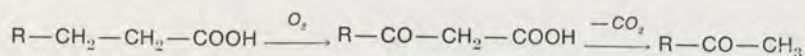
Pour fixer les idées, voici un tableau donnant le point de fusion, l'indice d'iode et l'indice de saponification de quelques échantillons de corps gras :

Tableau 10-2

	Point de fusion	Indice d'iode	Indice de saponification
Beurre	28-33°	26-38	220-230
Graisse de porc	36-46	50-70	195-197
» de bœuf	40-48	36-48	193-200
» humaine	17.5	57-66	193-199
Huile de foie de morue	0-10	144-168	175-193
» d'olive	2-10	78-91	185-194
» de lin	-27	173-202	190-195

iv) Rancissement des corps gras

Sous l'action de certaines bactéries et des enzymes qu'elles sécrètent, les glycérides qui entrent dans la composition des matières grasses sont transformés en glycérol et acides gras. Certains de ces derniers ont déjà par eux-mêmes une odeur désagréable (l'acide butyrique, par exemple). Par oxydation et rupture de la double liaison d'acides gras non saturés, il y a formation d'aldéhydes et d'acides gras volatils qui donnent aux corps gras rancis leur mauvaise odeur. Ce début de dégradation peut aussi fournir des acides β -cétoniques qui, après décarboxylation, donneront des méthyl-cétones :



Les méthyl-cétones renferment de huit à dix atomes de carbone ; elles ont une odeur et un goût tout à fait caractéristiques (fromages).

2. Cérides

Ce sont des esters d'acides gras de poids moléculaire élevé et d'alcools supérieurs monovalents.

Exemple : le palmitate de cétyle, constituant principal du blanc de baleine (alcool cétylique = $C_{16}H_{34}O$).

3. Stérides

Les stérides sont des esters d'acides gras et de stérols.

La lanoline ou graisse de la laine de mouton, est un mélange d'oléate, de palmitate et de stéarate de cholestérol.

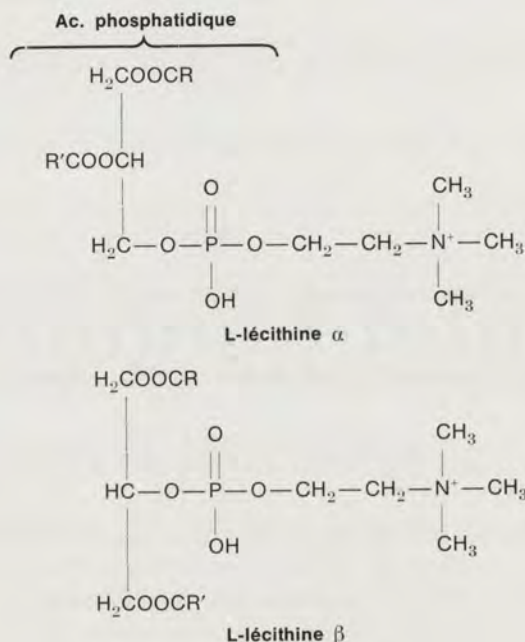
C. LIPIDES COMPLEXES

La plupart des lipides complexes sont des diesters d'acide orthophosphorique. Ceux qui n'appartiennent pas à cette catégorie seront ici décrits en même temps que les autres. Le fait que ces lipides complexes sont très répandus dans la biosphère doit leur faire donner le rang de constituants fondamentaux des cellules.

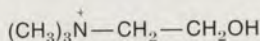
1. Glycérophosphatides

a) Lécithines ou phosphatidylcholines

Les lécithines sont des esters de phosphorylcholine et de glycérol estérifié deux fois par des acides gras ⁽¹⁾. Selon la position de la liaison ester par rapport au carbone α et au carbone β du glycérol, deux isomères sont possibles



La biosphère ne synthétise que des lécithines α , très répandues dans toutes les cellules. La pluralité des lécithines α résulte de la diversité des radicaux R, saturés ou non. La base de la lécithine, la choline



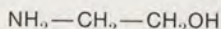
est aussi très répandue dans la biosphère.

Les lécithines sont insolubles dans l'eau, dans laquelle elles gonflent. Elles sont solubles dans l'alcool et l'éther, et insolubles dans l'acétone.

⁽¹⁾ L'hydrolyse partielle d'une lécithine s'accompagne du déplacement d'un seul acide gras ; on obtient alors une lysolécithine. L'acide lysophosphatidique résulte de la phosphorylation d'un monoglycéride ; comme dans le cas de la lysolécithine, il ne contient donc qu'un seul acide gras.

b) Céphalines ou phosphatidyléthanamines

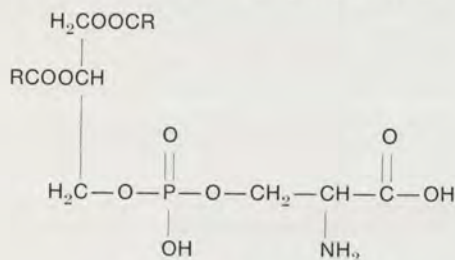
Les céphalines sont des diacylglycérilphosphoryléthanamines et elles diffèrent donc des lécithines par la substitution de la choline par une autre base, l'aminoéthanol (ou colamine) :



A l'état pur, les céphalines sont solubles dans le méthanol, l'éthanol, l'éther, l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acide acétique glacial, et insolubles dans l'acétone. Mêlées à d'autres glycérophosphatides (phosphatidylsérine, plasmalogène, etc.) elles sont insolubles dans l'alcool. Il est vraisemblable que les céphalines naturelles sont du type α , mais la démonstration de ce fait n'est pas encore complète.

c) Phosphatidylsérines

Solubles dans le chloroforme, ces glycérophosphatides sont moins solubles dans l'éthanol ou le méthanol, ce qui permet de les isoler. La sérine est la base qui tient ici la place de la choline dans les lécithines. Les phosphatidylsérines ont donc la structure suivante :

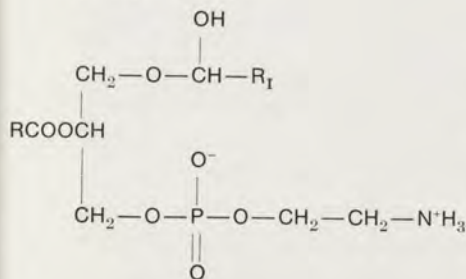
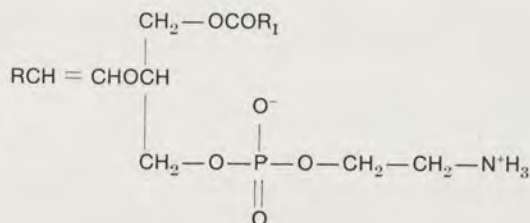


L-phosphatidylsérine

d) Plasmalogènes

Les plasmalogènes sont solubles dans l'alcool, l'acide acétique glacial et le chloroforme, légèrement solubles dans le benzène, insolubles dans l'acétone et l'éther.

On propose deux structures, soit la forme hémiacétal, soit un éther α' , β' non saturé.

Phosphatidal d'éthanolamine
(forme hémiacétal)Lysophosphatidal d'éthanolamine
(forme éther)

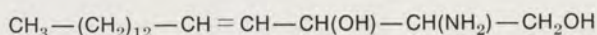
La choline et la sérine peuvent remplacer l'éthanolamine dans les deux formules représentées.

e) *Phosphoinositides*

Ces lipides complexes contenant de l'inositol, sont nombreux et encore mal connus.

2. *Sphingolipides*

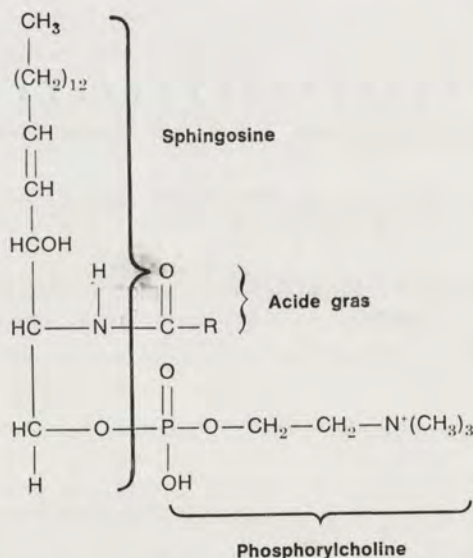
Dans ces lipides complexes l'alcool est, non le glycérol, mais la sphingosine, aminoalcool en C_{18} .



Sphingosine

a) *Sphingomyélines ou phosphosphingosides*

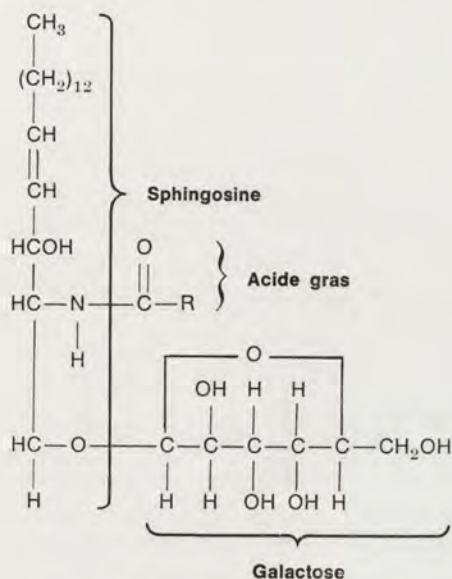
Les sphingomyélines pures et cristallisées sont insolubles dans l'éther et dans l'acétone. Elles sont solubles dans le benzène, l'éthanol à chaud et l'acétate d'éthyle à chaud. Elles sont émulsionnables dans l'eau.



b) *Cérébrosides*

Leur hydrolyse fournit la sphingosine, des acides gras et du galactose. Ce sont des constituants essentiels de toutes les cellules (animaux, végé-

taux, champignons) et les seuls lipides complexes ne contenant pas de groupe phosphate.



II. COMPOSITION CHIMIQUE DES MEMBRANES CELLULAIRES

Depuis les travaux d'Overton, réalisés à la fin du siècle dernier, on considère que les lipides représentent un constituant important de toutes les membranes cellulaires. Comme ces dernières jouent un rôle fondamental dans le métabolisme de la cellule, on a essayé d'établir une corrélation entre la composition en lipides et le type de différenciation cellulaire. Les études les plus récentes portent non seulement sur les membranes cellulaires mais aussi sur les membranes d'organites intracellulaires comme la mitochondrie.

Dans le cas des globules rouges, les analyses réalisées sur les « ghosts » ⁽¹⁾ provenant de différentes espèces, montrent que les lipides représentent entre 20 et 30 % du poids total de la préparation. Comme des chiffres assez voisins de ces derniers ont été trouvés pour d'autres membranes cellulaires, on estime que la quantité de matériel lipidique est assez constante d'une espèce animale à l'autre. Ceci est aussi vrai dans le cas des phosphatides puisqu'on trouve qu'ils varient de 50 à 60 % du poids total des lipides (Tableau 10-3).

La proportion des divers phosphatides varie d'une espèce à l'autre et on a pu montrer que la concentration en lécithine variait en proportion

⁽¹⁾ Lorsque le globule rouge est soumis à l'hémolyse on obtient une cellule dépourvue de son contenu et constituée essentiellement d'un riche réseau de membranes : « le ghost ».

inverse de celle en sphingomyéline (Tableau 10-4), la somme des deux constituants étant pratiquement constante.

Tableau 10-3

COMPOSITION EN LIPIDES DES MEMBRANES DES GLOBULES ROUGES

Les analyses ont été faites sur les « ghosts » et les résultats sont exprimés en pour cent des lipides totaux

Différents échantillons ont été utilisés pour la détermination des constituants indiqués ci-dessous, ce qui explique que la somme des pourcentages n'est pas exactement égale à 100

(d'après De Gier et Van Deenen)

Espèce	Acides gras des glycérides	Cholestérol	Phosphatides
Mouton	28	27	60
Bœuf	33	31.5	56
Porc	27	21.5	53
Homme	29	23	58
Lapin	33	21	58
Rat	28	28	61

On a pu établir une relation intéressante entre la teneur en lécithine et certains caractères de perméabilité des globules rouges. La figure 10-1 montre la relation qu'il y a entre le temps d'hémolyse et la concentration en lécithine. On peut voir que la concordance est bonne et l'analyse statistique des résultats démontre d'ailleurs qu'elle est significative.

Tableau 10-4

COMPOSITION EN PHOSPHATIDES DES GLOBULES ROUGES DE DIVERSES ESPÈCES

Les analyses ont été faites sur les « ghosts » et les résultats sont exprimés en pour cent de la teneur totale en phosphatides

(d'après De Gier et Van Deenen)

Espèce	Lécithines	Sphingomyélines + lysophosphatides	Céphalines
Mouton	1	63	36
Bœuf	7	61	32
Porc	29	36	35
Homme	39	37	24
Lapin	44	29	27
Rat	56	26	18

Comme les phénomènes de perméabilité sont extrêmement complexes, il est difficile de tirer une conclusion définitive, mais la corrélation observée suggère toutefois que les proportions respectives des différents types de phosphatides de la membrane pourraient être à l'origine de certains caractères de perméabilité.

En ce qui concerne les acides gras des glycérides et des phosphatides, l'étude comparative de leur distribution dans les tissus des différents animaux permet de tirer des conclusions intéressantes.

Le tableau 10-5 donne la composition en acides gras des glycérides des tissus provenant de trois espèces animales alors que le tableau 10-6 donne la composition en acides gras des phosphatides des tissus de sept espèces animales.

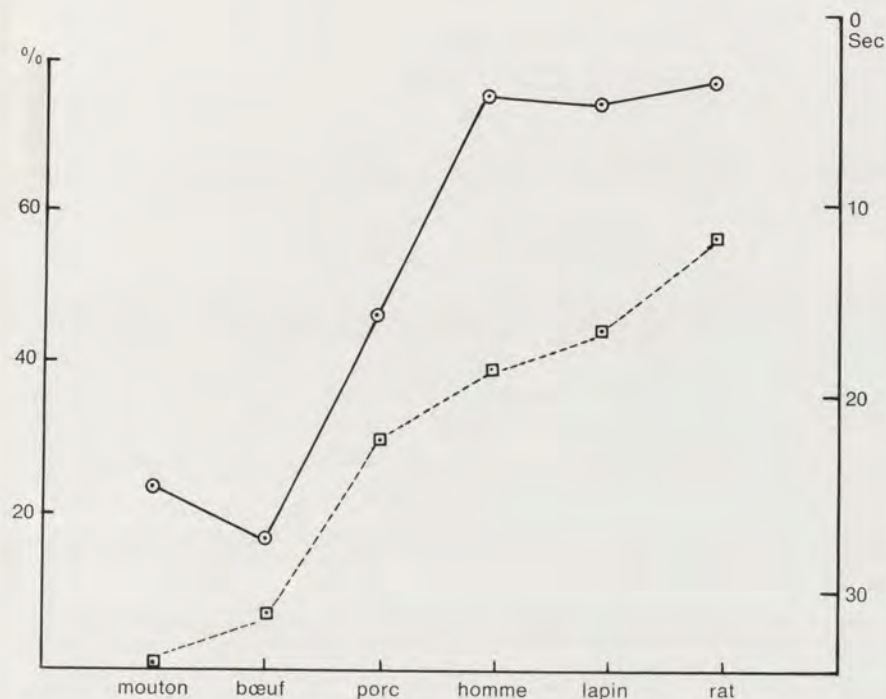


FIG. 10-1. Relation entre la concentration en lécithine (□) des globules rouges de diverses espèces et le temps d'hémolyse (○). L'hémolyse est obtenue dans une solution isotonique de glycol (d'après De Gier et Van Deenen).

Ces résultats peuvent être exprimés graphiquement (Fig. 10-2 et 10-3). On voit alors que les glycérides des différents tissus d'un même animal, ont la même composition relative en acides gras contrairement à ce qui est observé avec les phosphatides dont les proportions relatives sont plutôt en relation avec le type de différenciation cellulaire considéré. Il y a toutefois certaines différences et dans la série souris, rat, lapin, porc, cheval, bœuf et mouton, il y a une diminution progressive de la concentration en palmitate et oléate dans les phosphatides du poumon et du cerveau.

Les membranes des différents organites intracellulaires ont une composition en acides gras presque identique (Fig. 10-4), ce qui semble indiquer qu'à ce niveau les acides gras n'interviendraient pas directement dans la détermination de la spécificité des fonctions dévolues aux différents types de membranes.

Tableau 10-5
COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES GLYCERIDES EXTRAITS DE DIFFERENTS TISSUS
Résultats exprimés en pour cent du poids total des acides gras
(d'après Veerkamp, Mulder et Van Deenen)

Espèce	Tissu	Laurate + myristate	Palmitate	Palmito- oléate	Stéarate	Oléate	Linoléate	Linoléate	Arachidonate
Souris	foie	0.5	24.5	5.5	4	44.5	19.5	0.5	1
	rein	3	27	8.5	6	41	14	0.5	—
	poumon	3	30	9	7	41.5	9	0.5	—
	ascite d'Enrich	1.5	19.5	3.5	11	40	18	3	3.5
Rat	graisse de dépot	4	27	10	4	35.5	18.5	1	—
	foie	2	30	5.5	3	32	24	1.5	2
	rein	2.5	29.5	9.5	7	33	15.5	2	1
	poumon	4	30.5	10	5.5	33.5	14.5	1.5	0.5
	tumeur au benzopyrène	4	29	5	9.5	34	15	1.5	2
	hépatome	2	25	6	8.5	37	14	1	6.5
Lapin	foie	4	39	11	4	30.5	8.5	2.5	0.5
	rein	4.5	37	11	3.5	25.5	13	4.5	1
	poumon	5	39	9.5	6	25	12	3	0.5
	cerveau	4	33	6.5	18	23.5	9.5	3	2.5
	cœur	4.5	37.5	7	4.5	28.5	14	2.5	1.5
	rate	7.5	41.5	10.5	3	26.5	9	2	—
	tumeur de Brown-Pearce	5.5	35.5	7	6.5	29.5	13	3	+

Tableau 10-6
COMPOSITION EN ACIDES GRAS DES PHOSPHATIDES EXTRAITS DE DIFFERENTS TISSUS
Les résultats sont exprimés en pour cent du poids total des acides gras
(d'après Veerkamp, Mulder et Van Deenen)

Espèce	Tissu	Laurate + myristate	Palmitate	Palmito- oléate	Stéarate	Oléate	Linoléate	Linoléate	Arachidonate
Souris	foie	+	28	3	20	17	13.5	—	18.5
	rein	0.5	27	2.5	21.5	15.5	12	—	21
	poumon ascite d'Ehrlich	3	45	12.5	12	14	5	—	8.5
Rat	foie	1	20	3.5	20	28	19	1	7.5
	rein	0.5	24.5	3	28	14	14	—	16
	poumon cerveau	0.5 3	24.5 41	3 8	20.5 13.5	18.5 16	12.5 8	0.5	20
Lapin	tumeur (Benzopyrène)	1	29.5	1.5	23.5	32.5	0.5	2	10.5
	hepatome	2	31	4	20	21.5	10.5	—	11
	foie	2	29	5	14	24	12	0.5	13.5
Porc	rein	0.5	25.5	5	17.5	20.5	24	2	5
	poumon	0.5	20.5	4.5	17	23.5	23.5	1	9.5
	cerveau	1.5	45	7	5.5	19.5	0.5	3.5	8.5
Cheval	cœur	0.5	24.5	2	26	37	0.5	1	8.5
	rate	0.5	20	3	13	18.5	27.5	1.5	16
	tumeur Brown-Pearce	1	34	4	14.5	21.5	13.5	+	11.5
Bœuf	poumon	1	25	4	17	29	14.5	1.5	8
	cerveau	2.5	42	4.5	14	21	8	1	7
	cerveau	1	25.5	3	23	37	1.5	—	9
Mouton	poumon	2	42	4.5	10.5	25.5	9	0.5	6
	cerveau	+	23.5	2	27	42.5	—	3.5	1.5
	cerveau	3	37	6	14	28.5	5.5	—	6
Mouton	cerveau	1	25.5	2	23	39.5	—	4	5
	cerveau	2.5	31	5.5	16.5	33.5	5.5	0.5	5
	cerveau	0.5	20	1.5	28	41	—	5	4

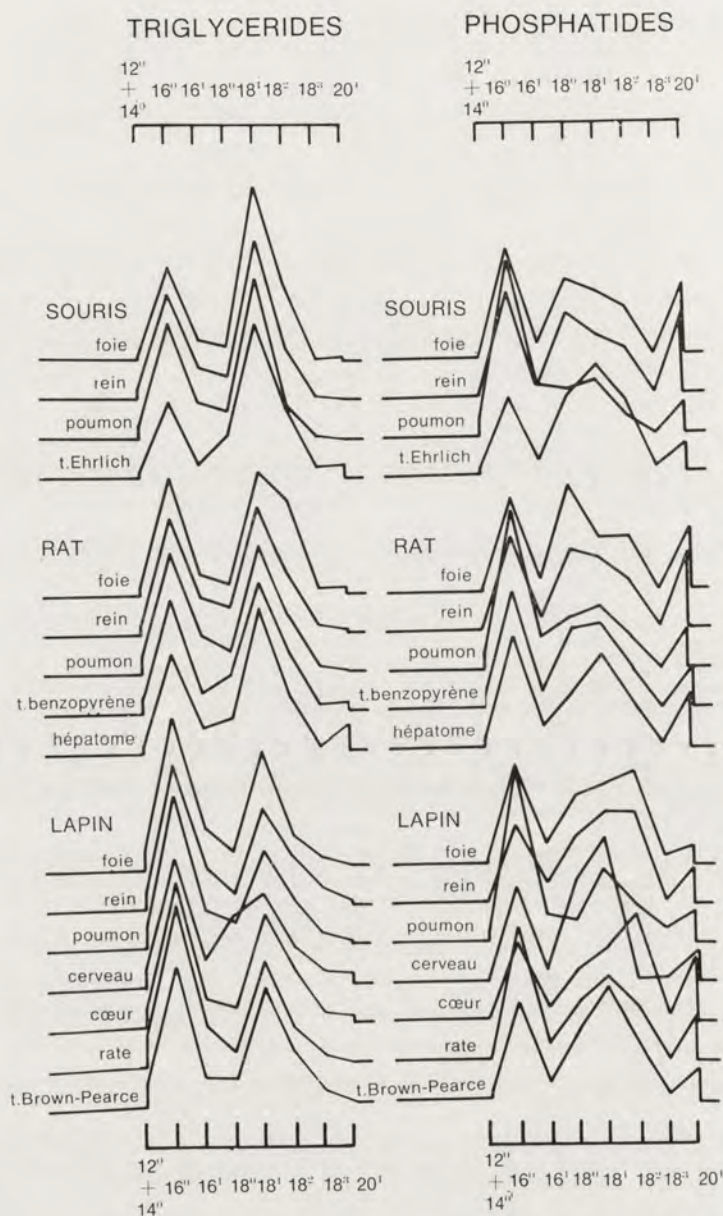


FIG. 10-2. Composition en acides gras des triglycérides et des phosphatides extraits des tissus normaux et pathologiques de trois espèces animales. Le pourcentage en poids est exprimé en ordonnée et l'intervalle séparant deux lignes horizontales représente une variation de 10 %. En abscisse, les acides gras sont représentés par un chiffre donnant le nombre d'atomes de carbone de la chaîne et l'exposant indique le nombre de doubles liaisons (d'après Veerkamp, Mulder et Van Deenen).

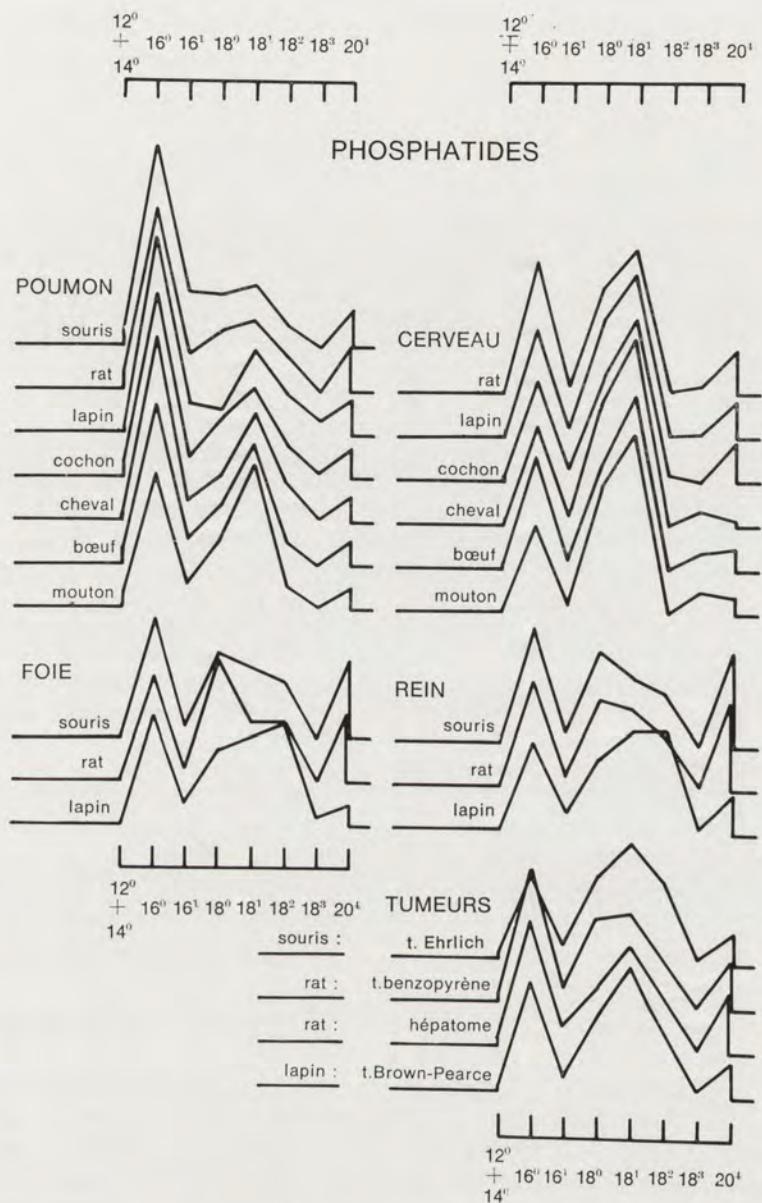


FIG. 10-3. Composition en acides gras des phosphatides extraits de tissus normaux et pathologiques (d'après Veerkamp, Mulder et Van Deenen). (Explications : légende de la figure 10-2).

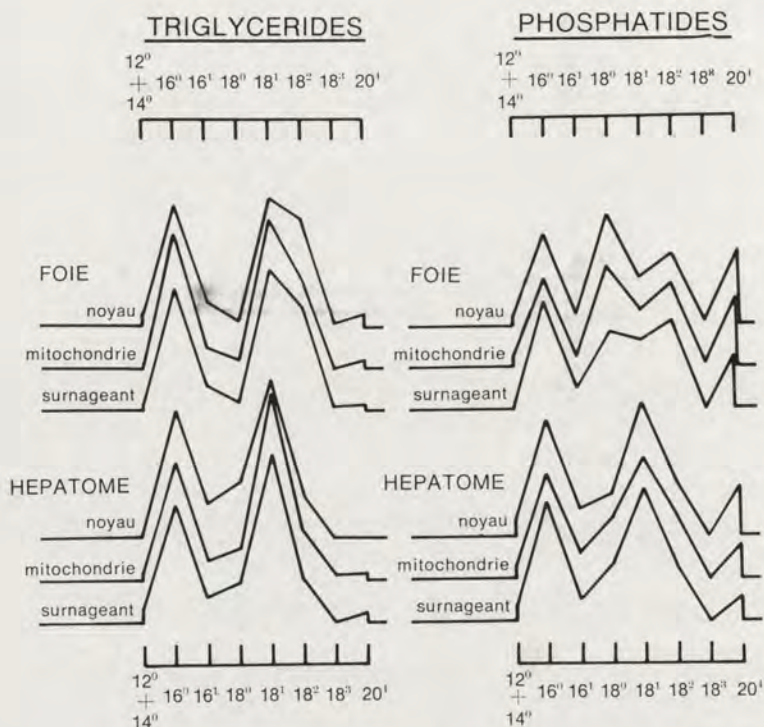


FIG. 10-4. Composition en acides gras des triglycérides et des phosphatides de différentes fractions cellulaires du foie de rat (explications : légende de la figure 10-2) (d'après Veerkamp, Mulder et Van Deenen).

III. ULTRASTRUCTURE DES FILMS LIPIDIQUES

Les constituants des membranes cellulaires pondéralement les plus importants sont les lipides et les protéines.

Les problèmes en relation avec la composition et la structure des protéines sont examinés dans les chapitres 6 et 16.

Quant aux lipides, on sait que leur caractéristique essentielle réside dans le fait qu'ils possèdent une partie hydrophobe consistant en une ou plusieurs chaînes hydrocarbonées ou encore en une portion cyclique comme dans le cas des stéroïdes.

La figure 10-5 donne la structure et l'encombrement stérique approximatif des lipides qui sont les plus importants pour le problème qui nous intéresse. Toutes ces molécules ont tendance à former des couches dans lesquelles les portions hydrophobes des molécules sont opposées. Dans le cas d'une couche monomoléculaire d'acides gras à chaîne longue, comprimée à une interface eau-air, les groupes polaires des molécules sont insérés dans l'eau alors que les parties hydrophobes restent dans la phase gazeuse (Fig. 10-6).

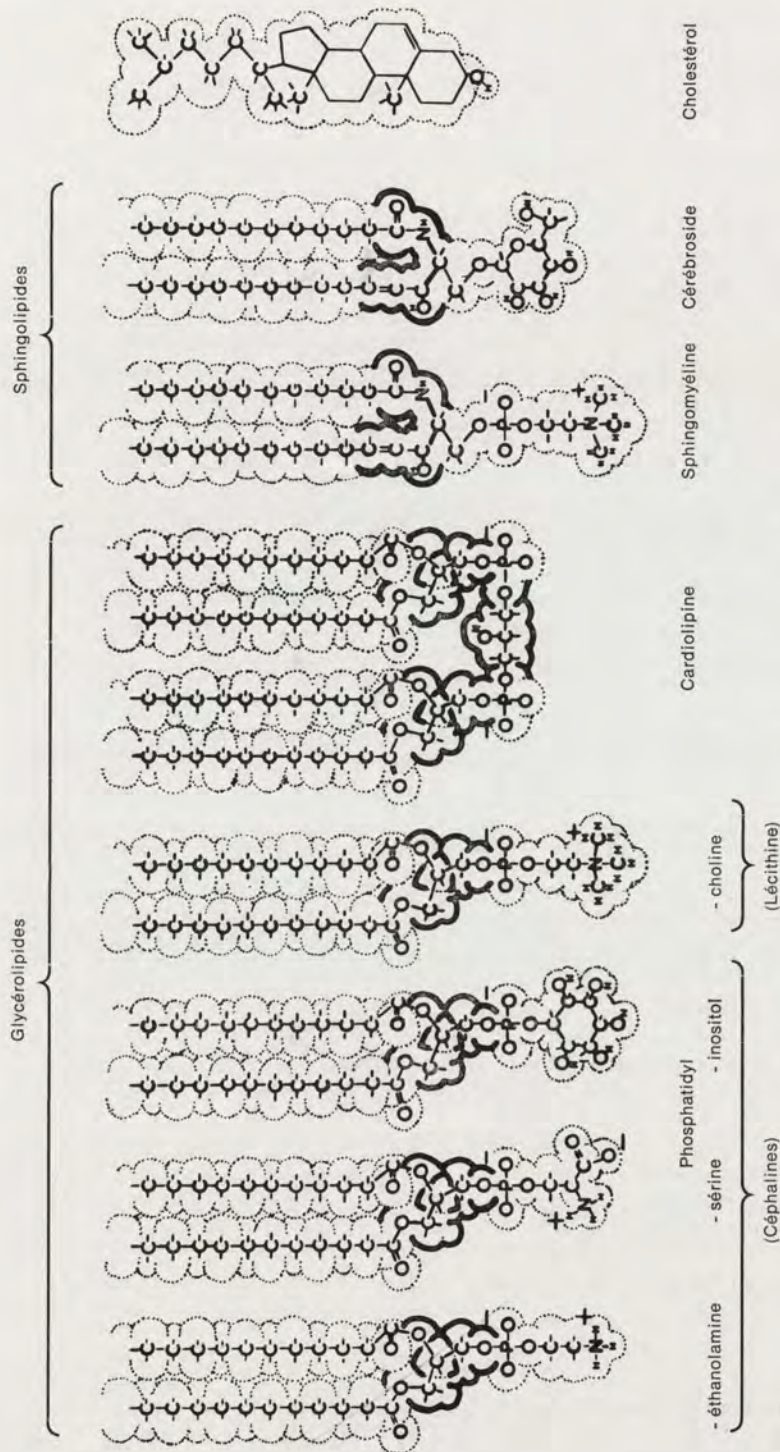


FIG. 10-5. Encombrement stérique approximatif de quelques lipides entrant dans la composition des membranes vivantes (d'après Finean).

Les films monomoléculaires ont été l'objet de nombreuses études dans le but d'éclaircir non seulement des problèmes d'ultrastructure tels que distances interatomiques, forme de la molécule, surface de section, etc.

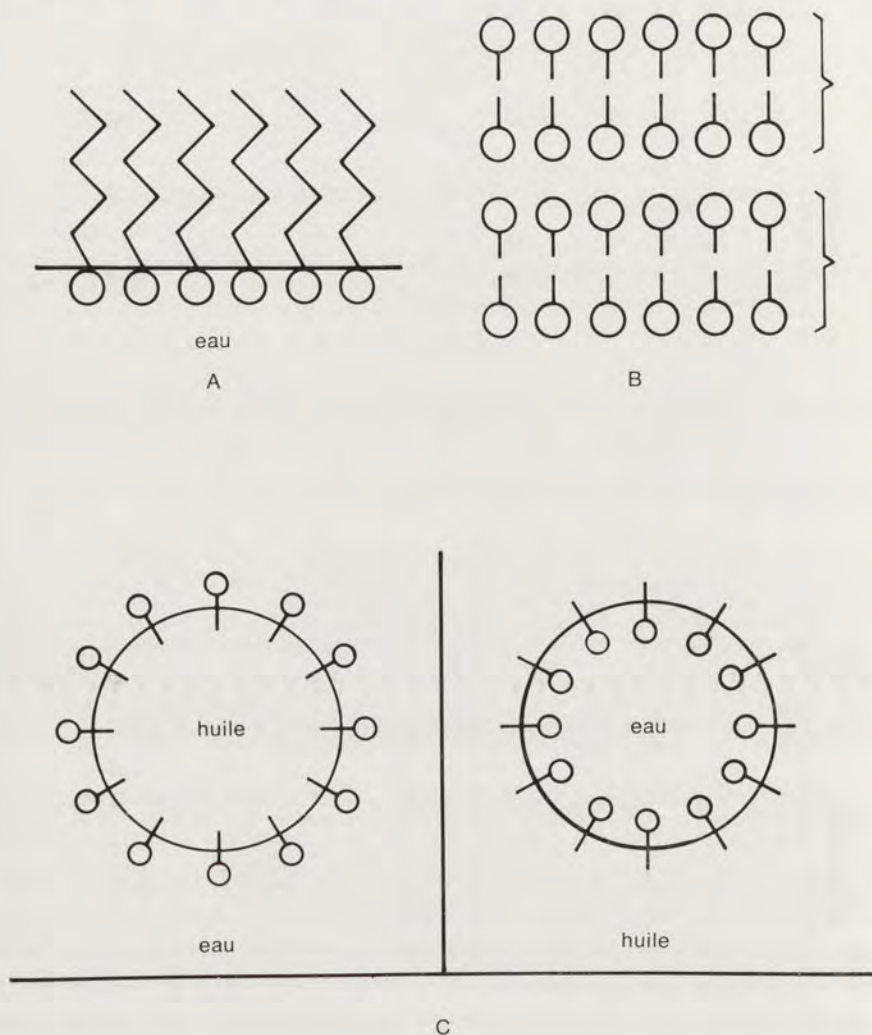


FIG. 10-6. Arrangement des molécules d'acide gras.

A : en une couche monomoléculaire

B : en couches superposées dans du matériel à l'état cristallin

C : à une interface eau-huile.

Remarquez la position du groupe polaire schématisé par un cercle (d'après Schoffeniels)

mais aussi de définir aussi précisément que possible les forces impliquées dans la stabilisation des couches de lipides. Dans ce genre d'étude on considère la relation existant entre la pression développée et la surface occupée par la couche monomoléculaire (courbe tension-surface). Dans

le cas des acides gras, une modification portant sur le groupe polaire a très peu d'influence sur la courbe, contrairement à celle portant sur la longueur de la chaîne hydrocarbonée ou sur son degré de saturation.

On a ainsi pu montrer que les facteurs responsables de la stabilité d'un film de phosphatides sont non seulement les forces électrostatiques entre les zwitterions de la même classe (P^- et N^+) mais aussi les interactions de Van der Waals entre les chaînes hydrocarbonées et les forces de répulsion entre ces chaînes et les molécules d'eau.

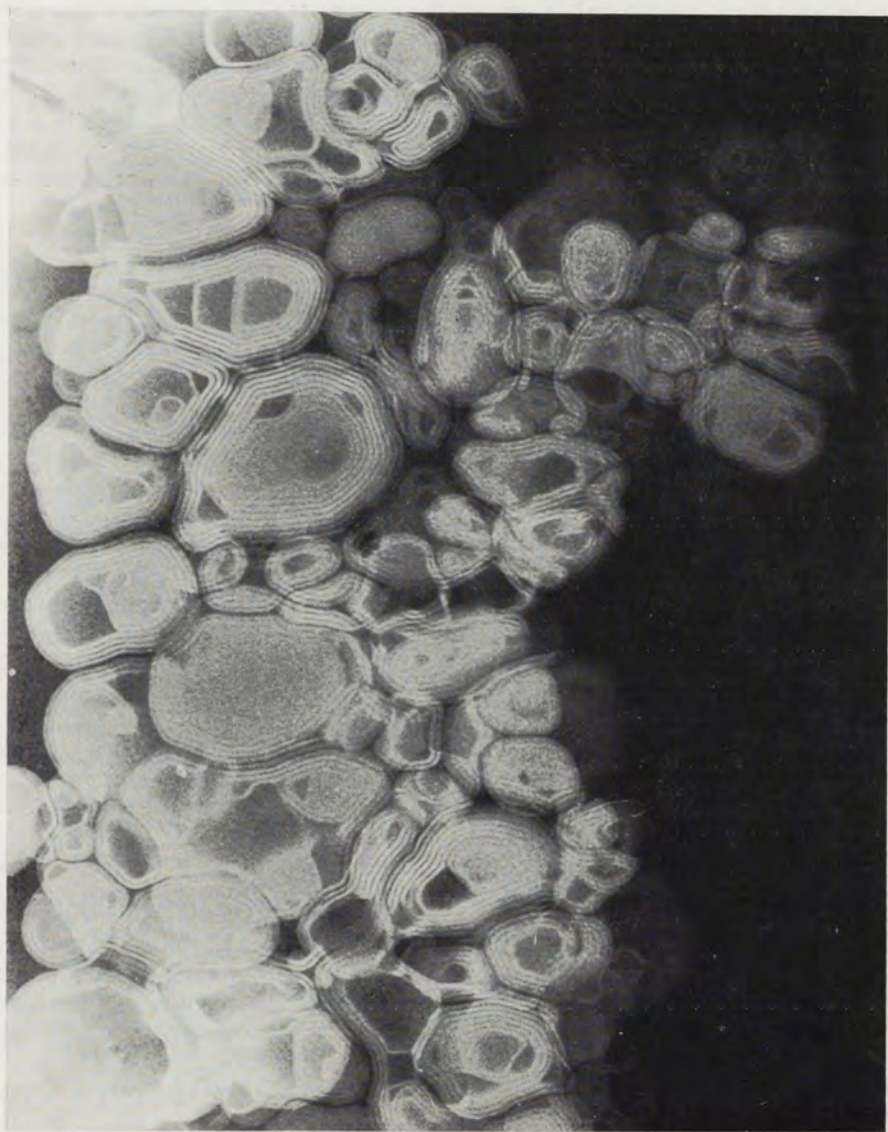


FIG. 10-7. Ovolécithine traitée par les ultrasons et une solution de phosphotungstate de potassium à 2 %. $\times 145\,000$ (d'après Bangham et Horne).

Les films monomoléculaires formés à partir de mélanges de lipides ont permis de réaliser des associations lipidiques particulièrement stables. On a montré par exemple que le cholestérol modifie la structure d'un film de lécithine en formant un système plus étroitement associé. Cette observation apporte un élément important dans l'interprétation de l'ultrastructure de la myéline (p. 251).

D'autres informations concernant la structure des couches lipidiques ont été obtenues par la méthode de la diffraction des rayons X. A l'état solide les molécules lipidiques polarisées sont organisées en couches successives formées de films bimoléculaires mettant en contact d'une part les surfaces ioniques et d'autres part les portions hydrophobes des molécules. On a pu préserver l'organisation des molécules lipidiques en couches superposées et ainsi permettre leur observation au microscope électronique. Les couches sont épaisses de 40 à 50 Å et bien qu'il y ait encore pas mal d'incertitudes quant au détail de l'arrangement des molécules, il est certain que les images observées traduisent l'organisation en couches bimoléculaires.

IV. PHÉNOMÈNES ÉLECTRIQUES AUX INTERFACES

Il y a généralement une accumulation de charges électriques à la limite existant entre deux phases. A ce niveau, se forment deux couches d'ions de signes opposés : c'est ce que l'on convient d'appeler la double couche. L'existence de ces charges peut parfois donner naissance à une différence de potentiel. Il est toutefois très difficile, si pas impossible, de mesurer en valeur absolue cette différence de potentiel puisqu'il faut introduire au moins une autre interface pour compléter le circuit électrique.

Plusieurs théories ont été proposées pour calculer la différence de potentiel prenant naissance au niveau de la double couche. La plus ancienne remonte à Helmholtz qui dès 1879 proposait d'assimiler le système à un condensateur formé de deux couches monomoléculaires portant des charges de signe opposé. Dans cette théorie, on postule que la variation de potentiel entre les deux couches est linéaire, ce que nous savons être faux dans la plupart des cas. Assimiler la double couche à un condensateur est donc une approximation qui peut conduire à une évaluation fautive tant de la grandeur que du sens de la différence de potentiel. En effet, il est très difficile d'obtenir une valeur exacte de la constante diélectrique de l'espace séparant les charges électriques. De plus, on sait que dans la plupart des systèmes physico-chimiques d'intérêt pour le biologiste, une des couches au moins est diffuse, ce qui permet de supposer que le champ électrique ne varie pas de façon uniforme entre les couches.

On peut démontrer l'existence de la double couche en réalisant une expérience simple. Considérons une interface placée dans un champ électrique. Si le champ électrique a une composante parallèle à l'interface et si les deux phases sont mobiles, elles se déplaceront en sens opposé

et selon l'orientation du champ électrique. Dans le cas d'un solide finement pulvérisé dans l'eau, on peut observer le déplacement des particules dans un champ électrique (électrophorèse). S'il s'agit par contre d'un système constitué d'une phase solide fixe (sable, membrane de terre cuite, tube capillaire, etc.) l'eau se déplacera relativement au solide ; c'est ce qu'on appelle l'électroendosmose. D'autre part, l'application d'une pression hydrostatique forçant l'eau à se déplacer à travers la membrane de terre poreuse ou le tube capillaire, produira une différence de potentiel, appelée potentiel d'écoulement, qui s'établira dans l'épaisseur de la membrane de terre poreuse ou entre les extrémités du capillaire. Donc dans le système considéré, une force électromotrice produira un mouvement relatif des deux phases, et réciproquement un mouvement relatif des deux phases engendrera une force électromotrice.

A l'interface, il y a donc des couches porteuses de charges électriques, de signe opposé, expliquant la différence de potentiel (potentiel électrocinétique ou potentiel ζ).

On peut aussi expliquer la différence de potentiel prenant naissance à une interface par le fait qu'une seule espèce ionique peut passer facilement d'une phase à l'autre. L'exemple le plus simple est donné par le potentiel d'électrode qui résulte, dans le cas d'une électrode métallique (argent par exemple) de la solubilisation du métal. Il peut aussi s'agir d'une phase qui n'est pas un métal, mais qui peut néanmoins donner ou accepter facilement un ion (résine échangeuse d'ions).

Une extension de ce cas est fournie par la considération d'une membrane séparant deux solutions, l'une contenant une macromolécule chargée électriquement et ne pouvant franchir la membrane, l'autre, une solution saline (équilibre de Donnan, potentiel de Donnan).

Enfin les mobilités dans la membrane de l'anion et du cation étant différentes, on observera une différence de potentiel entre les deux phases liquides séparées par la membrane (potentiel de diffusion).

V. ULTRASTRUCTURE DES MEMBRANES CELLULAIRES

A. RÉSULTATS DE L'ANALYSE DIRECTE

Des études réalisées sur la perméabilité des membranes vivantes à l'aide de substance hydro- et liposolubles, on peut conclure que la barrière fonctionnelle est de nature lipidique. Les arguments qui viennent d'être présentés concernant le comportement des molécules de lipides, permettent de supposer que cette barrière est représentée par une seule couche bimoléculaire de lipides.

Les caractéristiques électriques de la membrane vivante sont en effet très proches de celles d'une couche bimoléculaire d'acides gras. Les valeurs du tableau 10-7 illustrent cette proposition.

Une couche d'acides gras n'explique toutefois pas certaines caractéristiques physiques de la membrane vivante. On a par exemple mesuré la tension de surface de différentes cellules. La valeur trouvée est voisine de 0.1 dyne cm^{-1} . C'est une valeur beaucoup plus basse que celle trouvée avec un film d'acide gras. C'est pourquoi on doit postuler que dans le cas de la membrane vivante les lipides sont associés à des protéines.

Tableau 10-7
CARACTERISTIQUES COMPARÉES D'UNE MEMBRANE VIVANTE ET D'UNE COUCHE
BIMOLÉCULAIRE DE PHOSPHOLIPIDES
(d'après Thompson)

Caractéristiques	Membrane cellulaire	Couche bimoléculaire de phospholipides
	20 - 25 °C	36 °C
Épaisseur Å	60 - 80 Å	61 ± 10
Résistance électrique $\Omega \text{ cm}^2$	10^8 - 10^9	$0.25 - 4 \cdot 10^8$
Capacitance $\mu\text{F cm}^{-2}$	0.5-1.3	0.75
Tension de surface dynes cm^{-1}	0.03-3.0	0.5
Perméabilité à l'eau $\mu\text{l min}^{-1} \text{ atm}^{-1}$	0.1-3.0	0.16
Voltage de rupture mV	100-300	200 ± 20

Des considérations qui ont été présentées plus haut, on peut s'attendre à ce que l'épaisseur de la couche bimoléculaire de lipides soit voisine de 40 à 65 Å alors que les couches de protéines recouvrant les deux faces du film lipidique devraient avoir une épaisseur d'environ 10 Å chacune.

Après l'introduction du permanganate de potasse en microscopie électronique, Robertson a pu mettre en évidence une structure, épaisse de 75 Å localisée à la surface de la cellule ou dans les gaines de myéline, consistant en deux bandes apparaissant en noir sur les clichés et séparées par une zone claire. Cette structure a été retrouvée au niveau de toutes les cellules et des organites intracellulaires. L'utilisation d'autres fixateurs (acide osmique par exemple) a permis d'établir plus en détail les particularités de cette structure qui, étant donné sa généralité, a été appelée par Robertson la membrane unitaire. À la lumière des nombreuses études qui ont été consacrées à la membrane unitaire, il apparaît que cette structure est riche en lipides et en protéines et qu'elle doit être associée à la barrière fonctionnelle généralement appelée la membrane cellulaire.

Les études faites par la méthode de la diffraction des rayons X permettent de montrer qu'au niveau de la membrane unitaire l'eau est organisée et se trouve dans un état voisin de celui qu'on observe à l'état solide (glace). D'autre part, il apparaît que l'épaisseur totale de la membrane est voisine de 100 Å, comme l'épaisseur de la couche lipidique

n'excède pas 65 à 70 Å, les 30 Å restants doivent être attribués aux deux couches de protéines (Fig. 10-8).

Dans ces conditions, il apparaît que les lipides présents dans la myéline doivent se trouver dans un état d'organisation qui diminue l'encombrement stérique de ces molécules à l'état libre.

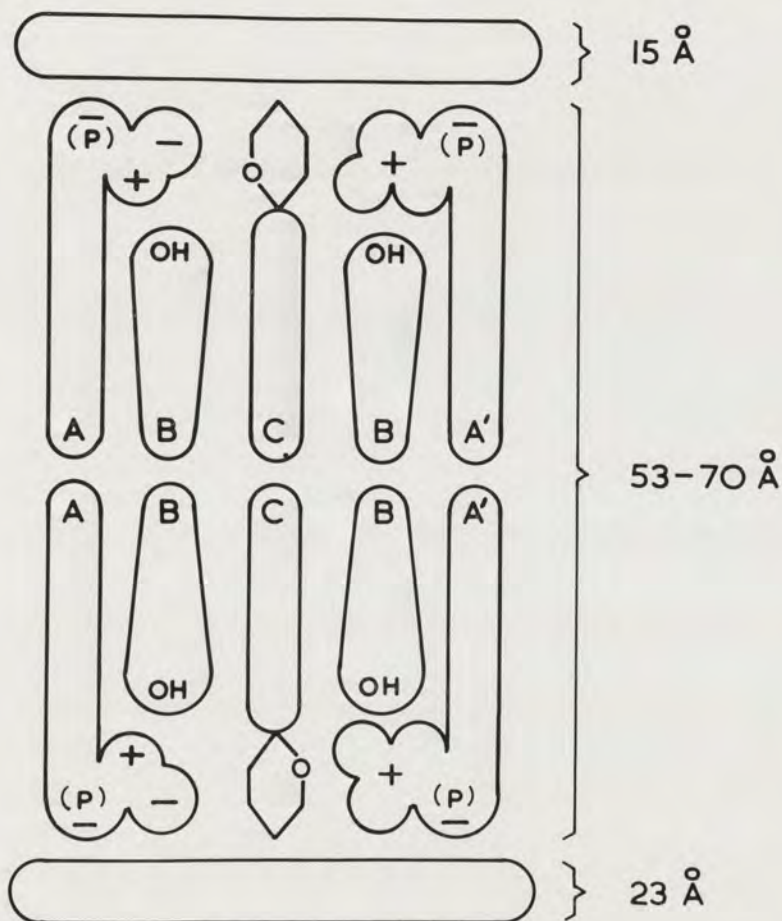


FIG. 10-8. Représentation schématique de l'ultrastructure de la myéline (d'après Schoffeniels).
A = phosphatidylsérine ; B = cholestérol ; C = cébroside ; A' = sphingomyéline.

Nous avons signalé plus haut l'action stabilisante du cholestérol. Nous savons d'autre part que dans la myéline les phospholipides, le cholestérol et les cébrosides sont présents dans le rapport 2:2:1. Comme tout le cholestérol est pratiquement non estérifié, on pense que son groupe hydroxyle participe à l'organisation de la couche lipidique.

A la lumière de ces considérations, on peut proposer le schéma de la figure 10-8 qui illustre l'ultrastructure de la myéline.

La mitochondrie a également été étudiée sous cet angle et les premières études ont permis de mettre en évidence une structure des membranes mitochondriales voisine de celle de la myéline. L'analyse chimique de la mitochondrie a également révélé que cet organite possède des membranes riches en lipides mais, contrairement à ce qui a été trouvé avec la myéline ou le globule rouge, la quantité de cholestérol est faible. Il y a toutefois beaucoup de phospholipides (Tableau 10-8).

Tableau 10-8
COMPOSITION EN PHOSPHOLIPIDES DES MICROSOMES ET DES MITOCHONDRIES
D'ORIGINES DIVERSES

Les résultats sont exprimés en pour cent du phosphore des phospholipides totaux

	Phosphatidyl-			Sphingo- myéline	Autres phos- pholipides
	choline	sérine	éthanolamine		
Rat					
microsomes					
muscle strié	69.0	4.5	15.5	7.0	4.0
ovaire	53.0	8.0	11.0	12.0	16.0
foie	37.0	11.0	16.0	8.0	28.0
rein	44.0	11.5	14.0	19.0	11.5
mitochondrie					
foie	72.5	7.5	15.0	5.0	—
Bœuf					
mitochondrie					
cœur	37.0	—	31.0	—	32.0
Porc					
mitochondrie					
cœur	36.0	3.0	25.0	5.5	27.0

L'utilisation de meilleures techniques de fixation et d'enrobage a permis à certains auteurs de mettre en évidence, au niveau de la membrane des crêtes mitochondriales, l'existence de structures globulaires ayant un diamètre de 80 à 100 Å. Cette unité macromoléculaire est appelée la particule élémentaire. Elle est présente également dans les chloroplastes.

La particule élémentaire serait selon certains un système organisé formé par l'arrangement précis des enzymes constituant certaines séquences métaboliques importantes de la mitochondrie (p. 347).

Sa relation avec la membrane unitaire n'est pas encore bien précisée puisque, selon d'autres auteurs encore, les membranes de la mitochondrie et des cellules en général seraient constituées d'unités globulaires placées côte à côte.

Selon le concept de la membrane unitaire, les couches non lipidiques sont supposées être formées de protéines allongées plutôt que de protéines globulaires. Cette conclusion est proposée à la suite des observations faites par la méthode de la diffraction des rayons X qui indique qu'il n'y a pas assez de place, dans la myéline par exemple, pour une protéine globulaire.

Cette opinion devra sans doute être modifiée, tout au moins dans le cas des membranes des organites intracellulaires, puisque les résultats obtenus récemment dans ce domaine semblent indiquer la présence de protéines globulaires.

En tout état de cause, en dépit des limitations des méthodes utilisées pour la mise en évidence des ultrastructures, on peut conclure que l'essentiel des relations existant entre la structure et la fonction des membranes a été défini.

L'organisation submicroscopique de la membrane doit être considérée comme étant le résultat de l'existence d'un réseau dont la composition chimique est celle d'un mélange complexe de lipides associés à des protéines.

B. RÉSULTATS DE L'ÉTUDE FONCTIONNELLE

La conclusion d'Overton concernant la nature lipidique de la membrane cellulaire a été largement confirmée. C'est pourquoi sa méthode expérimentale, consistant à déduire les caractéristiques structurales d'une membrane à partir de ses propriétés fonctionnelles, a été beaucoup utilisée. Si les études concernant l'action de nombreuses substances sur les caractères de perméabilité des membranes vivantes ont permis de préciser la notion de site actif, il est toutefois difficile d'obtenir, à partir des résultats une image cohérente et détaillée de l'ultrastructure du site responsable d'un caractère de perméabilité.

Par contre l'étude du mouvement de l'eau et de certaines substances hydrosolubles a permis à certains auteurs de tirer des conclusions quant à l'ultrastructure de la membrane vivante.

L'opinion classique, proposée par Starling et Landis, et défendue par Ussing, est que le flux osmotique d'eau est la résultante d'un déplacement en **masse** de molécules à travers les **pores** de la membrane. Ce déplacement a lieu lorsque par suite de la présence d'une substance incapable de franchir la membrane il y a une différence dans les fractions molaires du solvant. L'autre opinion, plus récente, proposée par Chinard, est que le flux osmotique d'eau est essentiellement diffusionnel, c'est-à-dire qu'il s'agit d'un déplacement de molécules au hasard.

De nombreuses difficultés tant pratiques que théoriques s'opposent à la résolution du problème. Il est pourtant évident que la connaissance du mécanisme expliquant le passage de l'eau à travers une membrane vivante nous permettrait de tirer des conclusions importantes quant à l'ultrastructure de la membrane.

Le comportement de l'eau au niveau de la peau des amphibiens illustre les propositions ci-dessus.

Si la peau de la face ventrale d'un amphibien est placée entre deux chambres de telle sorte qu'une solution soit en contact avec la face externe (e) de la peau et une autre solution en contact avec la face interne (i), on peut mesurer simultanément le flux net d'eau Δw prenant naissance sous l'influence d'un gradient osmotique et le flux entrant J_{ei} à l'aide d'eau tritiée.

Connaissant le flux entrant et la concentration en eau du compartiment externe (55.5 M/litre pour l'eau pure), on peut calculer le coefficient de perméabilité de la membrane à l'eau, puisque

$$J_{ei} = P_1 C_{(e)} \quad (10-1)$$

où P_1 est le coefficient de perméabilité (LT^{-1}) et $C_{(e)}$ la concentration de l'eau dans le compartiment externe.

Dans le cas de la peau de crapaud J_{ei} est égal à $8.2 \cdot 10^{-3} \mu M \text{ cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$, ce qui donne une valeur de P_1 égale à $1.48 \cdot 10^{-4} \text{ cm sec}^{-1}$. On peut également utiliser la valeur du flux net pour calculer le coefficient de perméabilité puisque :

$$\Delta w = J_{ei} - J_{ie} = P_2 C_{(e)} - P_2 C_{(i)} = P_2 (C_{(e)} - C_{(i)}) \quad (10-2)$$

Dans cette équation J_{ie} est le flux sortant.

Les résultats expérimentaux montrent que Δw est égal à $4.6 \cdot 10^{-4} \mu M \text{ cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ lorsque la solution baignant la face externe de la peau est une solution saline de Ringer diluée 10 fois.

Connaissant la concentration de l'eau dans la solution de Ringer (55.3 M par litre) et postulant que la solution diluée est de l'eau pure (55.5 M par litre) il est possible à partir de la relation (10-2) de calculer P_2 . On obtient une valeur voisine de $2.3 \cdot 10^{-3} \text{ cm sec}^{-1}$ qui est donc 16 fois plus grande que celle obtenue pour P_1 .

Si la même expérience est réalisée avec une membrane artificielle, on obtient des différences importantes selon que le coefficient de perméabilité est déterminé par la mesure d'un flux net (c'est-à-dire un changement de volume) ou à l'aide d'un isotope. Dans le cas d'une membrane de colloïdion, la composante du flux d'eau attribuable à la diffusion est la $\frac{1}{730}$ partie du flux osmotique.

On est donc amené à conclure qu'une pression osmotique ou hydrostatique, appliquée au niveau d'une membrane perméable à l'eau, donne naissance à un transfert d'eau qui dans sa presque totalité n'a pas les caractères d'un phénomène de diffusion.

On a proposé diverses explications pour justifier la différence observée dans les valeurs de P_1 et P_2 . Aucune n'est satisfaisante et le problème reste posé dans son entièreté.

On a suggéré que la détermination du coefficient de perméabilité à l'aide d'eau tritiée ou d'eau lourde serait entachée d'une erreur par suite de l'existence d'un effet isotopique ; l'eau marquée ne se comporterait pas comme l'eau ordinaire. Cette interprétation peut toutefois être rejetée car on sait que le flux osmotique a la même valeur, qu'il soit déterminé à l'aide

d'eau ordinaire ou d'eau lourde par exemple. Si l'eau franchit la membrane au niveau de sites disposés dans l'épaisseur de la membrane ou s'il existe au contact immédiat de la membrane une couche d'eau ne se mélangeant pas parfaitement avec la solution immédiatement adjacente, l'activité spécifique de l'eau à ces niveaux pourrait être très différente de celle mesurée dans la solution. Enfin la membrane pourrait être percée de pores au niveau desquels l'eau se déplacerait en masse selon la loi du flot laminaire.

C'est cette dernière interprétation qui est la plus généralement acceptée, notamment dans le cas des membranes vivantes.

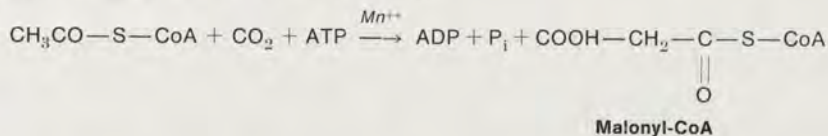
En insérant la valeur du flux net d'eau, dans une équation appropriée, il est possible de calculer non seulement le diamètre moyen des « pores » de la membrane, mais aussi la fraction de la surface totale de la membrane occupée par les pores (densité). Les chiffres obtenus avec diverses cellules sont tous voisins de 10 Å pour le diamètre du « pore », et la surface des « pores » représenterait une fraction de pourcent de la surface totale de la membrane.

Si la différence existant entre le flux osmotique d'eau et la diffusion de cette molécule peut être attribuée à l'existence de pores dans la membrane vivante, on doit s'attendre à ce que le flux osmotique d'eau exerce un effet d'entraînement sur les substances en solution. C'est en fait ce qui est observé avec certaines molécules. Par contre d'autres molécules ayant des dimensions ou des fonctions chimiques voisines se comportent différemment, ce qui suggère que le mécanisme responsable du passage de l'eau et des molécules à travers une membrane vivante est très spécifique et de toutes façons plus complexe que ce qui est postulé dans la théorie simple et naïve de la membrane poreuse.

VI. UTILISATION DE L'ÉNERGIE LIBRE DANS LES MEMBRANES CELLULAIRES

A. BIOSYNTHESE DES ACIDES GRAS

La synthèse des acides gras fait intervenir le malonyl-CoA qui est synthétisé selon la réaction suivante.



L'enzyme qui catalyse la réaction (carboxylase de l'acétyl-CoA E. N. 6.4.1.2) contient de la biotine qui, avec l'ion Mn^{++} , est indispensable au déroulement de la réaction.

Le malonyl-CoA est rapidement utilisé à la synthèse d'acides gras à chaîne longue. Dans le cas de l'acide palmitique on a : $1 \text{ acétyl-CoA} + 7 \text{ malonyl-CoA} + 14 \text{ NADH} + 14 \text{ H}^+ \rightarrow 1 \text{ palmitate} + 7 \text{ CO}_2 + 8 \text{ CoA} + 14 \text{ NAD} + 6 \text{ H}_2\text{O}$.

Le système nécessite donc la présence d'acétyl-CoA et de NADred. Il est intéressant de remarquer que le CO_2 produit dans la réaction est celui qui a été fixé au cours de la carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA. Les deux derniers carbones du palmitate (C_{15} et C_{16}) proviennent de l'acétyl-CoA alors que tous les autres carbones sont fournis par le malonyl-CoA.

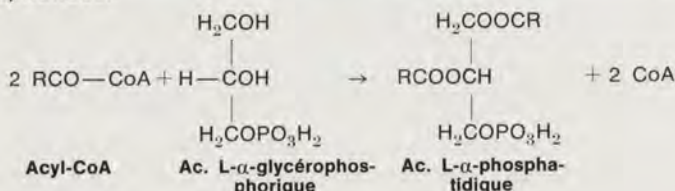
Puisque le glucose est une source importante d'acétyl-CoA, cette molécule constitue un point important de convergence entre les voies métaboliques des oses et des acides gras. Plus particulièrement, à partir de l'acétyl-CoA provenant du catabolisme du glucose, on peut obtenir un acide gras et dans le cas de l'acide palmitique par exemple, il est facile de montrer que quatre moles de glucose sont indispensables à la synthèse d'une mole de cet acide gras.

On peut ainsi calculer l'efficacité théorique des voies métaboliques aboutissant à la synthèse d'une mole de palmitate à partir de quatre moles de glucose. L'oxydation complète de quatre moles de glucose s'accompagne de la libération de 2 720 Kcal alors que l'oxydation complète d'une mole de palmitate libère 2 400 Kcal. Il est donc certain que la mise en réserve par la lipogenèse, de l'énergie chimique des oses, est un processus extrêmement efficace.

B. BIOSYNTHESE DES TRIGLYCÉRIDES

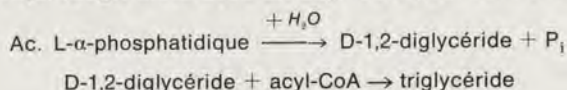
On trouve très peu d'acides gras à l'état libre dans la cellule. Ils sont en effet transformés, au cours d'une réaction d'activation, en dérivés du coenzyme A et incorporés à l'acide α -glycérophosphorique.

Cette réaction, préliminaire à la synthèse des triglycérides, aboutit à la formation d'acide L- α -phosphatidique, qui est également le précurseur des phosphatides.



Cette réaction a une spécificité absolue pour l' α -glycérophosphate et requiert préférentiellement des acides gras à 16 ou à 18 carbones.

L'acide phosphatidique est hydrolysé au cours d'une étape ultérieure en diglycéride qui réagit alors avec un acyl-CoA pour former un triglycéride.



La première réaction est catalysée par la phosphatidate phosphatase (E. N. 3.1.3.4) et la deuxième par la diglycéride acyltransférase (E. N. 2.3.1.20).

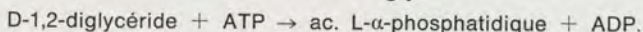
La première réaction ne s'accompagne pas d'un changement de configuration : le phosphatidate est qualifié L- par suite de ses relations struc-

turelles avec le L-glycérophosphate, alors que le diglycéride est D- à cause des rapports stéréochimiques qu'il a avec le D-glycéraldéhyde.

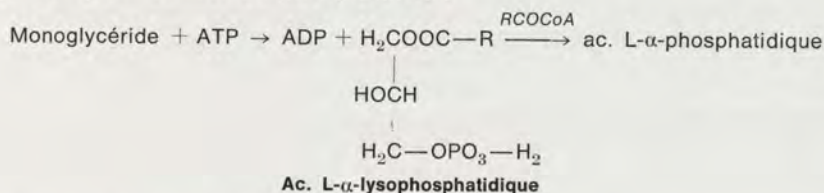
Si le foie est le siège principal de la synthèse des triglycérides, la fraction microsomique de toutes les cellules possède toutefois l'arsenal des enzymes capable de réaliser cette biosynthèse. On trouve aussi dans les microsomes de l'épithélium intestinal de rat et de lapin un système enzymatique qui catalyse la formation de diglycéride à partir de monoglycéride et d'acyl-CoA. Ce système n'est pas présent dans la cellule hépatique.

C. BIOSYNTHESE DES PHOSPHATIDES

Le phosphatidate est le précurseur des phosphatides. Outre la séquence métabolique décrite en B., il peut être formé au cours d'une réaction kinasique faisant intervenir un diglycéride et l'ATP :

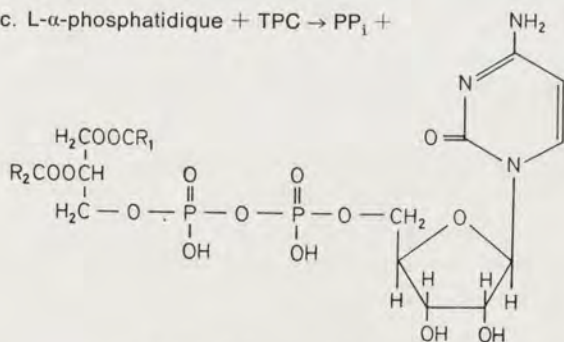
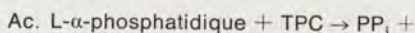


D'autre part à partir d'un monoglycéride (α ou β) on a, en présence d'ATP, formation d'un acide L- α -lysophosphatidique qui se combine alors avec un acyl-CoA pour donner un phosphatidate.



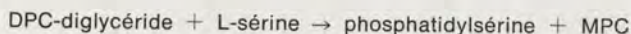
1. Phosphatidylsérines

La première étape de la biosynthèse des phosphatidylsérines est la formation d'un intermédiaire dérivé de l'acide phosphatidique et du triphosphate de cytidine (TPC)



Cytidine-diphosphate-diglycéride

L'intermédiaire réagit alors avec la L-sérine pour former la phosphatidylsérine



La phosphatidylsérine peut également être formée au cours de la réaction suivante :

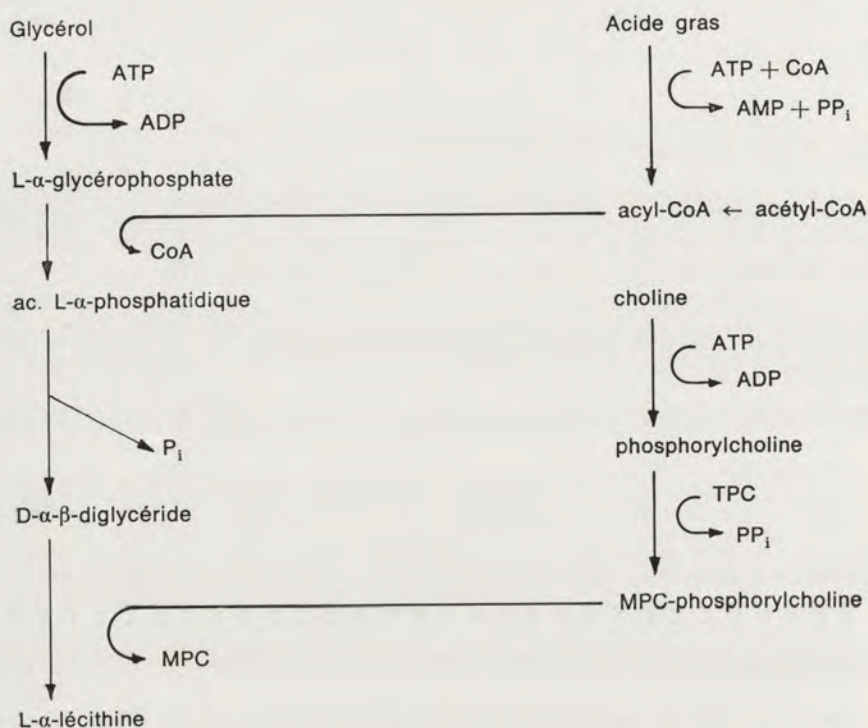
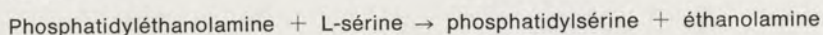
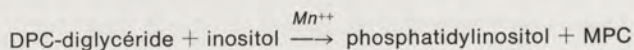


FIG. 10-9. Biosynthèse des lécithines (d'après Kennedy).

2. Phosphatidylinositols

La formation de ces phosphatides a lieu selon un schéma analogue à celui qui vient d'être décrit :



3. Phosphatidyléthanolamines (céphalines)

Les expériences réalisées à l'aide d'isotopes radioactifs indiquent que les phosphatidyléthanolamines sont produites par décarboxylation des phosphatidylsérines. L'enzyme catalysant la réaction nécessite la présence de phosphate de pyridoxal.

4. Phosphatidylcholines (lécithines)

La biosynthèse des lécithines se fait selon deux voies principales. L'une fait intervenir la phosphorylcholine.

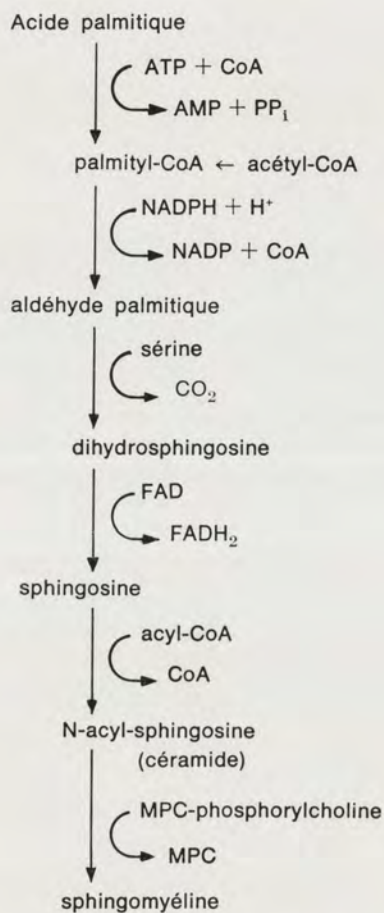
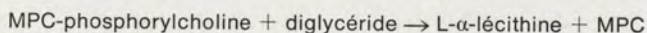
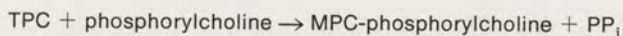


FIG. 10-10. Biosynthèse des sphingomyélines.

Le schéma de la figure 10-9 résume l'ensemble des réactions qui aboutissent à la synthèse des lécithines à partir de glycérol et d'acides gras.

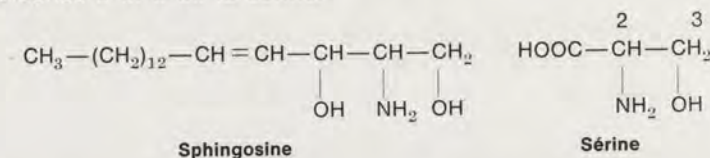
Une autre voie métabolique fait intervenir la méthylation de phosphatidyléthanolamine à partir de S-adénosylméthionine. La méthylation se fait par étapes successives et aboutit à la formation d'intermédiaires mono- et diméthylés.

5. Plasmalogènes

On ne connaît pas grand-chose de la biosynthèse des plasmalogènes. On sait toutefois qu'à partir de MPC-phosphorylcholine et d'un diglycéride, un extrait de foie de rat catalyse la synthèse d'un plasmalogène ayant pour base la choline. La même réaction a lieu avec les dérivés de l'éthanolamine.

6. Sphingomyélines

Comme le démontrent les études effectuées à l'aide d'isotopes, les carbones 1 et 2 de la sphingosine et de la dihydrosphingosine proviennent des carbones 2 et 3 de la sérine.

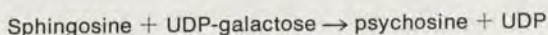


Le groupe aminé dérive également de la sérine et durant le transfert il reste attaché au carbone 2. Par contre la fonction carboxyle de la sérine est perdue au cours d'une réaction de décarboxylation.

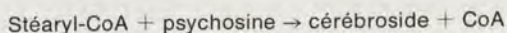
A partir d'enzymes extraits du cerveau de rat on a pu reconstituer la séquence métabolique aboutissant à la synthèse des sphingomyélines. Cette séquence est résumée dans le schéma de la figure 10-10.

7. Cérébrosides

Dans le réticulum endoplasmique des cellules du cerveau de cobaye et de rat on a mis en évidence la présence d'un enzyme catalysant la formation de psychosine ou galactosylsphingosine à partir de sphingosine et de UDP-galactose.



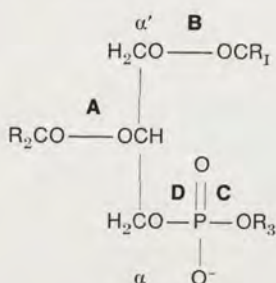
La fonction amine de la psychosine est alors acétylée par le stéaryl-CoA pour donner un cérébroside ou galactolipide



D. CATABOLISME DES PHOSPHATIDES

On a mis en évidence l'existence d'hydrolases agissant sur les liaisons esters des phosphatides. Ces enzymes sont présents dans les venins de serpent, le pancréas, certains végétaux (carotte, choux), la toxine α du *Clostridium welchii*, etc.

Ces hydrolases agissent sur les liaisons marquées des lettres **A**, **B**, **C** et **D** (dans la formule générale des lécithines).



La phospholipase A (E. N. 3.1.1.4) catalyse l'hydrolyse des lécithines au niveau de la liaison **A** avec comme conséquence la production d'une lysolécithine et d'un résidu d'acide gras. Cet enzyme est également actif sur la même liaison des céphalines, de la phosphatidyléthanolamine et des plasmalogènes dont la base est la choline ou l'éthanolamine. La phospholipase B agit sur la liaison **B** des lysolécithines ou de la lysophosphatidyléthanolamine. On a également mis en évidence l'existence d'enzymes capables d'hydrolyser les phosphatides au niveau des liaisons marquées **C** et **D** dans la formule générale ci-dessus.

E. RÔLE DES MEMBRANES CELLULAIRES DANS LA SYNTHÈSE DES PROTÉINES

Voir chapitre 16.

F. LES MEMBRANES CELLULAIRES ET LES MÉTABOLISMES PRIMAIRE ET SECONDAIRE

Voir chapitre 15.

G. LE TRANSPORT ACTIF

1. Définition

Les membranes cellulaires ont la propriété d'établir des différences de composition ou de concentration entre les liquides qu'elles séparent. Cette situation résulte de ce que nous sommes convenus d'appeler des caractères de perméabilité.

Si on en est encore au stade de la formulation d'hypothèses en ce qui concerne la relation exacte existant entre la structure de la membrane et les phénomènes de perméabilité, nous avons actuellement le moyen de définir la nature des forces responsables des déplacements de matière observés.

Si nous convenons de dire que le flux d'une substance est la quantité de matière traversant l'unité de surface de membrane dans l'unité de temps ($ML^{-2}T^{-1}$) on peut écrire dans le cas d'une molécule franchissant une membrane séparant deux compartiments 1 et 2 que

$$J_{12} = C_1 K \quad (10-3)$$

où J_{12} est le flux du compartiment 1 au compartiment 2, C_1 la concentration de la substance dans le compartiment 1 et K le coefficient de perméabilité. L'équation montre que K a pour dimensions LT^{-1} .

Si on considère le flux en direction opposée, on écrira :

$$J_{21} = C_2 K \quad (10-4)$$

La détermination de la valeur numérique de K , chose aisée depuis la généralisation de l'emploi des isotopes, ne permet toutefois pas de tirer une conclusion quant à la signification physique de cette constante. En d'autres termes, la connaissance du coefficient de perméabilité n'apporte rien quant à l'identification de la force responsable du mouvement observé.

Par contre, si nous considérons le rapport des flux, il est clair que dans le cas d'une substance se déplaçant en vertu de la deuxième loi de la thermodynamique, ce rapport devra être égal au rapport des concentrations. En effet

$$\frac{J_{12}}{J_{21}} = \frac{C_1 K}{C_2 K} = \frac{C_1}{C_2} \quad (10-5)$$

Pour être rigoureux on devrait utiliser l'activité, a , au lieu de la concentration. Comme, en pratique, on a rarement la possibilité de connaître le coefficient d'activité, on utilise en première approximation la concentration.

Dans le cas d'un ion, le problème se complique du fait que la plupart des membranes vivantes sont le siège d'une différence de potentiel électrique. Il faut donc, dans l'interprétation des résultats, tenir compte de cette force supplémentaire.

Dans le cas d'un ion, on aura donc :

$$\frac{J_{12}}{J_{21}} = \frac{C_1}{C_2} e^{-\frac{zF}{RT} (E_1 - E_2)} \quad (10-6)$$

où z est la valence ionique, F le nombre de Faraday (96 500 coulombs), R la constante des gaz (8.3 joules internat. par degré et par mole), T la température absolue et $E_1 - E_2$ la différence de potentiel existant entre les solutions 1 et 2 séparées par la membrane.

L'utilisation pratique de l'équation (10-6) est illustrée par les résultats du tableau 10-9.

Il s'agit des valeurs des flux unidirectionnels de Na obtenues à l'aide d'isotopes radioactifs. Le matériel biologique utilisé est la peau isolée de grenouille qui sépare deux compartiments. Celui qui est en contact avec la face externe de la peau contient une solution saline dont la concentration en Na est de 11.5 $\mu E/ml$ (compartiment 1). Le compartiment 2, en contact avec la face interne de la peau est rempli d'une solution contenant 115 $\mu E/ml$ de Na. Le flux entrant J_{12} , le flux sortant J_{21} et la différence de

potentiel électrique ($E_1 - E_2 = \Delta E$) sont mesurés au cours d'une période contrôle et dans les conditions d'inhibition des phosphorylations de la chaîne respiratoire par l'emploi de 2,4-dinitrophénol.

Tableau 10-9
LES FLUX ENTRANT ET SORTANT DE SODIUM AU NIVEAU DE LA PEAU
ISOLÉE DE GRENOUILLE
Chaque période contrôle est suivie de l'application d'un inhibiteur des phosphorylations
de la chaîne respiratoire (DNP)
(d'après Schotteniels)

	J_{12}	J_{21}	ΔE mV	Rapport des flux $\frac{J_{12}}{J_{21}}$	
				exp.	calc.
Contrôle	0.34	0.093	62	3.66	0.011
DNP	0.25	1.57	- 11	0.16	0.15
Contrôle	0.445	0.145	82	3.07	0.025
DNP	0.049	0.56	- 6	0.087	0.126
Contrôle	0.228	0.008	72	28.5	0.017
DNP	0.032	0.216	- 7	0.148	0.132

Au cours de la période contrôle, le rapport des flux trouvés expérimentalement est très différent de la valeur calculée à partir de l'équation (10-6). Ce résultat indique clairement que le flux net de Na ne peut pas s'expliquer par l'existence des gradients de potentiel électrique ou chimique.

Tableau 10-10
QUELQUES EXEMPLES D'IONS ET DE MOLECULES QUI SONT L'OBJET
D'UN TRANSPORT ACTIF

Transport actif	type cellulaire
ions inorganiques	
$\text{Na}^+ - \text{K}^+$	la plupart des cellules
Cl^-	épithélium gastrique (vertébrés); branchie des poissons; plantes carnivores; etc.
H^+	épithélium gastrique (vertébrés); plantes carnivores; etc.
Ca^{++}	la plupart des cellules
ions organiques	
certaines acides aminés (basiques, glycocolle, alanine, etc.)	rein, muscle, nerf et épithélium intestinal (vertébrés, arthropodes); monocellulaires; cellules tumorales; etc.
Certains acides gras	épithélium intestinal (vertébrés)
molécules	
D-glucose	épithélium intestinal, muscle (vertébrés)
D-galactose	levure; etc.

Les ions Na sont donc transportés activement à travers la peau de grenouille de la solution baignant la face externe de la peau vers la solution en contact avec la face interne, et de l'énergie dérivée du métabolisme doit être fournie pour expliquer le flux net observé.

En présence de 2,4-dinitrophénol, on voit au contraire qu'il y a une bonne relation entre la valeur du rapport des flux calculée et celle trouvée expérimentalement. Ce résultat indique donc que lorsque la source d'énergie métabolique est supprimée, les déplacements du sodium se font en vertu de la deuxième loi de la thermodynamique. Cette méthode d'analyse a été appliquée avec succès à de nombreux systèmes biologiques, ce qui a permis de mettre en évidence non seulement la généralité du phénomène du transport actif du Na et du K au niveau des membranes cellulaires, mais aussi de démontrer que d'autres ions organiques ou inorganiques, et certaines molécules, sont l'objet d'un transport actif.

Le tableau 10-10 donne quelques exemples caractéristiques.

2. La source directe d'énergie dans le transport actif

Nous avons défini le transport actif comme étant un mécanisme consommant de l'énergie, il est donc évident que de l'énergie chimique doit être introduite dans le système afin que la deuxième loi de la thermodynamique soit respectée.

La première question qui se pose est donc de connaître la nature de la source d'énergie cellulaire utilisée dans le transport actif. De nombreux travaux ont été consacrés à ce sujet et la conclusion des recherches effectuées à l'aide d'inhibiteurs du métabolisme est en faveur de l'hypothèse selon laquelle l'ATP serait la source d'énergie dans les phénomènes de transport actif.

Une démonstration directe de la participation de l'ATP est fournie par les expériences réalisées sur les globules rouges et l'axone géant de calmar. Dans le cas des hématies, l'ATP est introduit dans le « ghost » en hémolysant les cellules dans une solution d'ATP ; on constate alors que le ghost est capable de transporter activement Na.

Des microinjections d'ATP, d'arginine-phosphate ou de phosphoénolpyruvate, dans un axone géant de calmar, dont le métabolisme est inhibé, restaurent le transport actif de Na. On peut donc conclure qu'en l'absence d'une production métabolique d'ATP, le transport actif des cations est aboli et peut être rétabli par l'introduction d'ATP dans le système.

3. Relation entre l'hydrolyse de l'ATP et le transport actif des cations

Si l'ATP est la source directe d'énergie dans le transport actif on peut postuler qu'un chaînon important du système doit être un enzyme capable d'hydrolyser l'ATP. Un tel enzyme a été mis en évidence dans la plupart des cellules et plus particulièrement dans les tissus dont la fonction principale est la régulation ionique de l'organisme entier. Cet enzyme qui est localisé dans les membranes cellulaires hydrolyse l'ATP en ADP et P_i et son activité est intimement liée à la présence de Mg, Na et K.

Une observation intéressante est que cet enzyme est inhibé, comme le transport actif des cations, par les glucosides cardiaques.

La plupart des cellules ont un transport actif qui est maximum en présence d'oxygène. On sait toutefois que la production d'ATP à partir du

métabolisme anaérobie est, dans beaucoup de cellules, suffisante pour assurer le fonctionnement partiel des phénomènes de transport actif.

On a recherché la relation stoechiométrique existant entre le nombre d'ions Na transportés et la consommation d'oxygène. Cette relation n'est pas toujours facile à déterminer puisque la part de la consommation d'oxygène, indépendante du transport actif, n'est pas aisément mesurable.

Certains résultats obtenus avec la peau d'amphibiens sont donnés dans le tableau 10-11.

Tableau 10-11
RELATION ENTRE CONSOMMATION D'OXYGÈNE ET TRANSPORT ACTIF DE Na
DANS LA PEAU ISOLÉE DE DEUX AMPHIBIENS
(d'après Zerahn)

Genre	Na transporté $\mu\text{E h}^{-1}$	O ₂ consommé			
		$\mu\text{E h}^{-1}$		en % Na transporté	
		total	net	total	net
Rana	8.94	6.25	1.94	74	22.5
Bufo	9.1	7.00	1.65	79	18.9

La consommation nette en oxygène, c'est-à-dire celle qui est supposée résulter du transport actif de Na, est obtenue en soustrayant la consommation mesurée en l'absence d'un transport actif de celle observée lorsque le sodium est transporté activement.

On peut voir qu'un équivalent d'oxygène est consommé pour quatre à cinq équivalents de Na transportés. Des chiffres très voisins ont été obtenus avec d'autres types cellulaires.

Au cours de l'oxydation de certains métabolites, l'ATP est synthétisé à partir d'ADP et de P_i (voir p. 331).

La réaction globale peut être écrite :

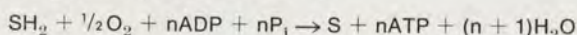


Tableau 10-12
VALEURS DU RAPPORT P : O POUR DIFFÉRENTS SUBSTRATS
(d'après Slater)

SH ₂	S	P : O (n)
α -cétylglutarate	Succinate + CO ₂	4
Succinate	Fumarate	2
Malate	Oxaloacétate	3
Pyruvate	Acétyl-CoA + CO ₂	3
Isocitrate	α -cétylglutarate + CO ₂	3

où SH₂ représente le substrat réduit. La valeur de n, appelée le rapport P : O varie de 2 à 4 selon le substrat (Tableau 10-12). Une valeur moyenne,

voisine de 3 est généralement acceptée, ce qui signifie donc que pour chaque atome d'oxygène, trois molécules d'ATP sont synthétisées.

En considérant les résultats du tableau 10-11 concernant la consommation d'oxygène au cours du transport actif de Na, on voit que huit à dix ions Na sont transportés par atome d'oxygène soit donc trois ions Na par molécule d'ATP hydrolysée.

Plusieurs hypothèses sont actuellement proposées pour définir le rôle exact de l'enzyme hydrolysant l'ATP, dans le mécanisme assurant le déplacement du Na. Aucune n'a reçu de confirmation expérimentale.

H. ORIGINE DES POTENTIELS BIOÉLECTRIQUES

L'existence d'un mécanisme de transport actif des cations localisé à la membrane cellulaire, a pour conséquence la création de gradients de concentration en ce qui concerne Na et K notamment.

C'est ainsi que dans le cas de la plupart des cellules, la concentration intracellulaire en Na est plus basse que celle du milieu extracellulaire. On observe la relation inverse dans le cas du K (Tableau 10-13).

Si la membrane cellulaire était perméable au seul cation K, on observerait une différence de potentiel électrique liée au gradient de concentration selon la relation bien connue de Nernst :

$$E_i - E_e = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[K]_i}{[K]_e} \quad (10-7)$$

où ($E_i - E_e$) est la différence de potentiel existant entre le liquide intracellulaire et le milieu extracellulaire, $[K]_i$ est la concentration intracellulaire en K et $[K]_e$ la concentration extracellulaire.

Tableau 10-13
CONCENTRATION EN Na ET K DANS LE LIQUIDE EXTRACELLULAIRE ET DANS
DIFFÉRENTS TYPES DE CELLULES CONDUCTRICES (*)

	Cellule		Milieu extracellulaire	
	K	Na	K	Na
Muscle				
Sauterelle	128	44	18	64
Blatte	112	45	17	107
Calmar	114	54	16	350
Thyone	169	170	10	450
Grenouille	85	24	3	104
Chat	113	21	6	150
Rat	158	18	4.6	138
Nerf				
Crabe	158	168	10	450
Calmar	375	72	16	350
Grenouille	48	62	3	104
Electroplaque				
Gymnote (mM/L d'eau)	152	20	5.8	185

(*) Concentration en mM par kg de poids frais sauf dans le cas du gymnote.

En première approximation, cette relation est applicable à la plupart des membranes vivantes et on a pu mettre en évidence l'existence d'une

relation logarithmique simple entre la différence de potentiel et la concentration extracellulaire en K (Fig. 10-11).

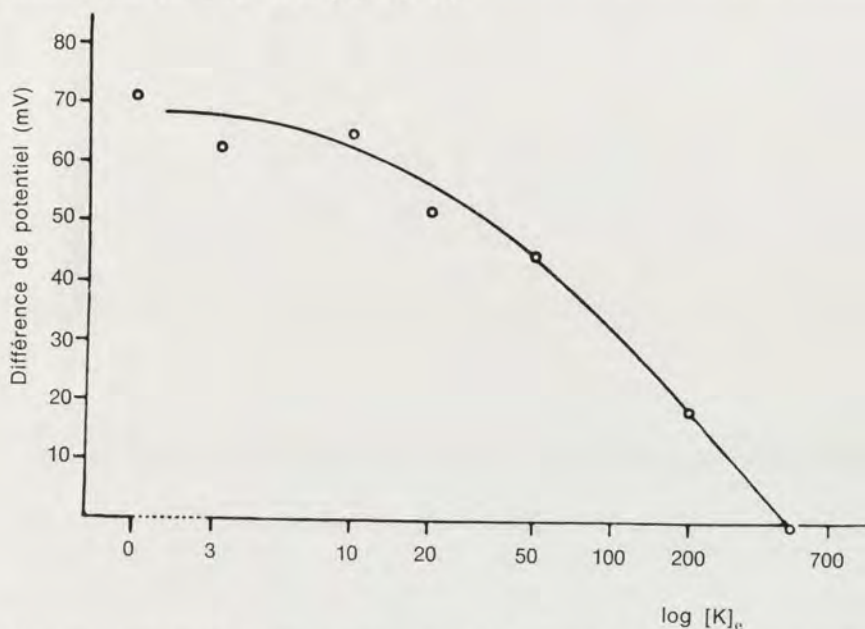


FIG. 10-11. Axone géant de calmar - Relation entre le potentiel de repos et le logarithme de la concentration en potassium du milieu extracellulaire (d'après Hodgkin et Keynes).

Dans les conditions normales la différence de potentiel est voisine de 80 mV, l'intérieur de la cellule étant négatif par rapport au liquide extracellulaire.

L'utilisation d'isotopes radioactifs a montré que la membrane des cellules est en réalité perméable à plusieurs espèces ioniques et plus particulièrement au Na et au Cl.

Dans ces conditions, il est important de tenir compte des gradients de concentration ainsi que de la perméabilité relative de la membrane vis-à-vis de ces ions.

Une équation du type suivant est alors plus appropriée pour décrire le phénomène observé :

$$E_i - E_e = \frac{RT}{zF} \ln \frac{P_{Na} [Na]_i + P_K [K]_i + P_{Cl} [Cl]_e}{P_{Na} [Na]_e + P_K [K]_e + P_{Cl} [Cl]_i} \quad (10-8)$$

où P_{Na} , P_K et P_{Cl} représentent les coefficients de perméabilité relative.

Dans le cas de l'axone géant de calmar, on a pu montrer que les valeurs des P s'établissaient selon la série : $P_K : P_{Cl} : P_{Na} = 1 : 0.5 : 0.02$, ce qui signifie que dans les conditions de repos, l'axone est très peu perméable au Na.

Une partie de l'énergie dépensée dans le transport actif est évidemment accumulée sous forme de gradients ioniques. Certaines cellules, les cellules dites conductrices, ont acquis au cours de l'évolution un mécanisme leur permettant d'utiliser l'énergie des gradients ioniques.

On sait en effet qu'un stimulus approprié (électrique, mécanique, chimique) appliqué à la surface d'une membrane conductrice a pour effet de créer une perturbation électrique locale qui se traduit par l'inversion temporaire, de l'ordre de la msec., du potentiel : c'est le potentiel d'action (Tableau 10-14). Au cours de cette activité électrique, l'intérieur de la

Tableau 10-14
POTENTIELS BIOÉLECTRIQUES MESURÉS AU NIVEAU DE QUELQUES
MEMBRANES CONDUCTRICES

Le signe se rapporte au liquide intracellulaire

	Différence de Potentiel (mV)	
	repos	activité
<i>Loligo forbesi</i>	- 50	+ 90
<i>Loligo pealii</i>	- 51	+ 104
<i>Sepia officinalis</i>	- 62	+ 120
<i>Homarus vulgaris</i>	- 62	+ 106
<i>Carcinus maenas</i>	- 71 à - 96	+ 116 à + 153
<i>Electrophorus electricus</i> (électroplaque)	- 80 à - 90	+ 125 à + 144
<i>Rana esculenta</i>	- 71	+ 116
<i>Rana temporaria</i> (muscle)	- 88	+ 119
<i>Rana pipiens</i> (myocarde)	- 50 à - 90	+ 65 à + 115
<i>Canis familiaris</i> (cellule de Purkinje)	- 90	+ 121
<i>Capra hircus</i> (cellule de Purkinje)	- 94	+ 135

cellule est donc positif par rapport au milieu extracellulaire et la variation totale du potentiel est voisine de 140 mV (Fig. 10-12).

La variation de potentiel s'accompagne de la production d'un courant électrique, le courant d'action. Ce courant électrique est produit par le déplacement du Na et du K. La phase ascendante du potentiel d'action s'explique par un accroissement du flux entrant de Na, alors que la phase descendante s'explique et par la diminution du flux entrant de Na et par un accroissement du flux sortant de K (Tableau 10-15).

Tableau 10-15

LE FLUX NET DES CATIONS AU COURS DE L'ACTIVITÉ ÉLECTRIQUE DE LA FIBRE NERVEUSE
DE DIFFÉRENTES ESPÈCES ET DE L'ÉLECTROPLAQUE DU GYMNOTE

Le flux est exprimé en $\mu\text{M cm}^{-2}$ et correspond à la variation observée
au cours d'un potentiel d'action

	Perte en K	Gain en Na
<i>Carcinus maenas</i>	1.7	—
<i>Sepia officinalis</i>	4.3	3.7
<i>Loligo forbesi</i>	3.0	3.5
<i>Loligo pealii</i>	—	4.5
<i>Electrophorus electricus</i>	—	0.9

Si on applique l'équation (10-8) au potentiel d'action, on constate que les coefficients de perméabilité prennent les valeurs relatives suivantes : $P_K : P_{Cl} : P_{Na} = 1 : 0.5 : 20$.

L'activité électrique de la membrane conductrice est donc le résultat d'une augmentation temporaire de la perméabilité au Na, ce qui se traduit par une variation d'impédance (Fig. 10-13).

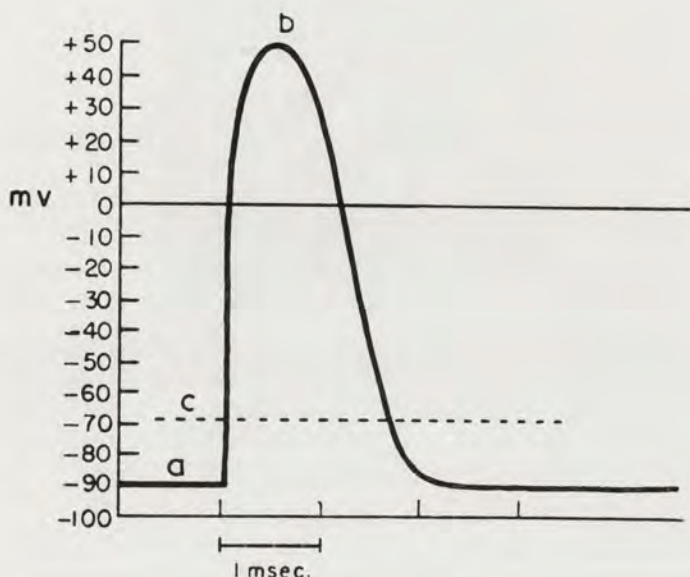


FIG. 10-12. Electroplaque du gymnote — Potentiel d'action enregistré à l'aide d'une électrode intracellulaire. (d'après Schoffeniels).

- a : potentiel de repos
- b : variation maximum de potentiel au cours de l'activité
- c : seuil d'activation.

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer le changement de perméabilité au Na à l'origine du potentiel d'action. Aucune n'est réellement satisfaisante. Nous résumerons toutefois celle qui a le mérite de prendre en considération l'aspect biochimique du problème (Fig. 10-14).

Le stimulus appliqué à une membrane conductrice a pour conséquence de libérer l'acétylcholine qui se trouve associée à une molécule dite de mise en réserve. L'ester libéré se fixe alors sur les sites actifs de la membrane avec pour conséquence un changement de configuration de la protéine portant les sites en question. C'est ce changement de configuration qui est à l'origine de l'augmentation de la perméabilité au Na.

Par suite de la présence de l'acétylcholinestérase (Fig. 10-14 : Ach-estérase), l'ester libre en équilibre dynamique avec le complexe ester-récepteur, est hydrolysé ce qui déplace l'équilibre dans le sens de la rupture du complexe acétylcholine-récepteur, permettant ainsi à la membrane de reprendre sa configuration première. La perméabilité au Na caractéristique de l'état de repos est de ce fait rétablie avec pour conséquence le retour du potentiel à sa valeur de repos.

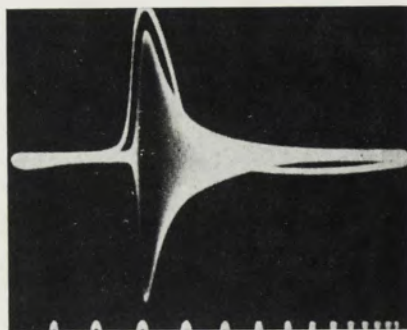


FIG. 10-13. Axone géant de calmar. Double exposition mettant en évidence le potentiel d'action et la variation d'impédance de la membrane (d'après Cole et Curtis).

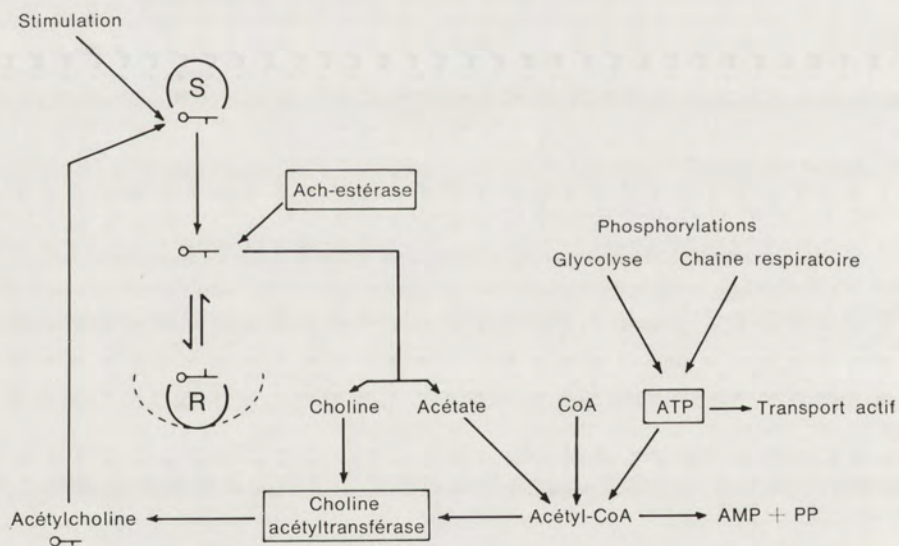


FIG. 10-14. Le cycle de l'acétylcholine et la génération du potentiel d'action (d'après Nachmansohn).

Dans cette hypothèse, la dépense d'énergie nécessitée par le changement de perméabilité n'est effectuée qu'au moment de la synthèse de l'acétylcholine.

A CONSULTER

- ACKERMAN, E., *Biophysical science*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1962.
- BANGHAM, A. D. et HORNE, R. W. (1964), *J. Mol. Biol.*, **8**, 660.
- COLE, K. S. et CURTIS, H. J., *J. Gen. Physiol.*, 1939, **22**, 649.
- DE GIER, J. et VAN DEENEN, L. L. M., *Biochim. Biophys. Acta*, 1961, **49**, 286.
- FINEAN, J. B., *Chemical ultrastructure in living tissues*. Thomas, Springfield, 1961.
- FLORKIN, M., *Aspects moléculaires de l'adaptation et de la phylogénie*. Masson, Paris, 1966.
- GREEN, D. E., *Israel J. Med. Sci.*, 1965, **1**, 1187.
- HODGKIN, A. L., et KEYNES, R. D., *J. Physiol.* 1955, **128**, 61.
- MARTONOSI, A., *Fed. Proc.*, 1964, **23**, 913.
- NACHMANSOHN, D., *Chemical and molecular basis of nerve activity*. Academic Press, New York, 1959.
- NACHMANSOHN, D., *Molecular biology*. Academic Press, New York, 1960.
- NACHMANSOHN, D., *Israel J. Med. Sci.*, 1965, **1**, 1201.
- REED, C. F., SWISHER, S. N., MARINETTI, G. V. et EDEN, E. G., *J. Lab. Clin. Med.*, 1960, **56**, 281.
- ROBERTSON, J. D., *Biochem. Soc. Symp.* 1959, **16**, 3.
- SCHOFFENIELS, E., *Cellular aspects of membrane permeability*. Pergamon Press, Oxford, 1966.
- SLATER, E. C., *Oxidative phosphorylation in Biochemists' Handbook* (Publié sous la direction de C. Long). Spon Ltd., London, 1961.
- VEERKAMP, J. H., MULDER, I. et VAN DEENEN, L. L. M., *Biochim. Biophys. Acta*, **57**, 299.
- ZERAHN, K., *Acta Physiol. Scand.*, 1956, **36**, 300.
- Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 1, 2 (1960), 3 (1962) ; 7 (1964). Academic Press, New York.
- Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 2 (1962), 6 (1965), Elsevier Publishing Co., Amsterdam.
- Metabolic pathways, 2nd edition of Chemical pathways of metabolism (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 1. Academic Press, New York, 1960.
- Traité de biochimie générale (Publié sous la direction de M. Javillier, M. Polonovski, M. Florkin, P. Boulanger, M. Lemoigne, J. Roche et R. Wurmser). Vol. 1, Fasc. 1. Masson, Paris, 1959.

CHAPITRE 11

La glycolyse, le cycle des pentoses et la voie métabolique de l'acide glucuronique

I. La glycolyse	274
A. La fermentation alcoolique	274
1. Historique	274
2. Les étapes de la glycolyse	277
B. Autres dénouements de la glycolyse	280
C. Autres enzymes de la glycolyse	281
D. Préludes à la glycolyse	282
E. Renversement de la glycolyse	283
F. Facteurs influençant la glycolyse	283
1. Rôle des phosphorylases	283
2. Effet Pasteur	284
G. Localisation intracellulaire des enzymes de la glycolyse	285
H. Conclusions	285
II. Le cycle des pentoses	286
III. La voie métabolique de l'acide glucuronique	290

La transformation du glucose en CO_2 et en H_2O s'accompagne de la libération de l'énergie emmagasinée dans la molécule de glucose. Cette énergie est mise à la disposition de la cellule sous forme d'ATP qui sera alors utilisé comme source directe d'énergie libre dans les processus endergoniques.

L'énergie d'oxydation du glucose est obtenue au cours de deux étapes se déroulant à des endroits différents de la cellule. L'étape cytoplasmique aboutit à la formation d'acide pyruvique et constitue un moyen de n'utiliser qu'une fraction limitée de l'énergie disponible. On donne le nom de glycolyse à cette séquence de réactions enzymatiques (schéma d'Embden-Meyerhof) au cours de laquelle s'opère la fragmentation des glucides par une voie qui ne met pas en jeu l'intervention de molécules d'oxygène.

L'étape mitochondriale est caractérisée par l'oxydation de l'acide pyruvique en CO_2 via le cycle de Krebs et sera examinée dans le chapitre suivant.

On considère généralement que les enzymes de la glycolyse sont solubles dans le liquide intracellulaire et ce en dépit de certaines observations tendant à démontrer le contraire. Sur la base de considérations thermodynamiques simples, il est pourtant évident qu'une séquence métabolique, telle la glycolyse, résultant d'un complexe polyenzymatique ne peut fonctionner adéquatement que si elle est organisée spatialement au niveau d'ultrastructures intracellulaires. Green a d'ailleurs proposé récemment une hypothèse suivant laquelle toutes les séquences métaboliques principales seraient organisées au niveau du riche réseau de membranes dont sont formés la cellule et les organites.

Bien qu'elle repose sur un ensemble d'observations encore incomplet, cette hypothèse est néanmoins très fructueuse, puisqu'elle permet d'entrevoir la possibilité de l'intégration de la somme des observations réalisées *in vitro* et sur la cellule intacte.

I. LA GLYCOLYSE

Le système enzymatique de la glycolyse est universel, du moins dans ses grandes lignes, bien qu'il en existe de nombreuses variantes dans le détail.

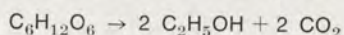
Le système le plus complètement connu est celui de la fermentation alcoolique du glucose en présence de levure.

A. LA FERMENTATION ALCOLIQUE

1. Historique

La fermentation du jus de raisin (pH voisin de 5.0) sous l'influence des levures croissant à la surface des grains (surtout *Saccharomyces cerevisiae*) et transportées d'une grappe à une autre par les insectes (en particulier les guêpes) est de connaissance très ancienne. La fabrication de la bière et celle du pain sont aussi des exemples bien connus de fermentation alcoolique, c'est-à-dire de dégradation anaérobie du glucose avec production d'éthanol et de CO_2 . C'est Théodore Schwann qui montra le premier, en 1837, que la fermentation alcoolique du jus de raisin, phénomène mystérieux à l'époque, dépendait de l'introduction de cellules vivantes dans la solution sucrée. La levure fut décrite par lui et

simultanément par Cagniard-Latour. Cette grande découverte rencontra aussitôt l'opposition déclarée des chimistes. Pour eux, la fermentation alcoolique était une opération chimique simple, exprimée par l'équation



Liebig alla jusqu'à rédiger avec Wöhler et jusqu'à publier anonymement un écrit facétieux ridiculisant les vues de Schwann et présentant la levure comme un infusoire mangeant un sucre, excréant de l'alcool par son tube digestif et du CO_2 par sa vessie en forme de bouteille de champagne. Vingt ans après, en 1860, Pasteur confirmait les vues de Schwann, et la théorie « vitaliste » de la fermentation triomphait.

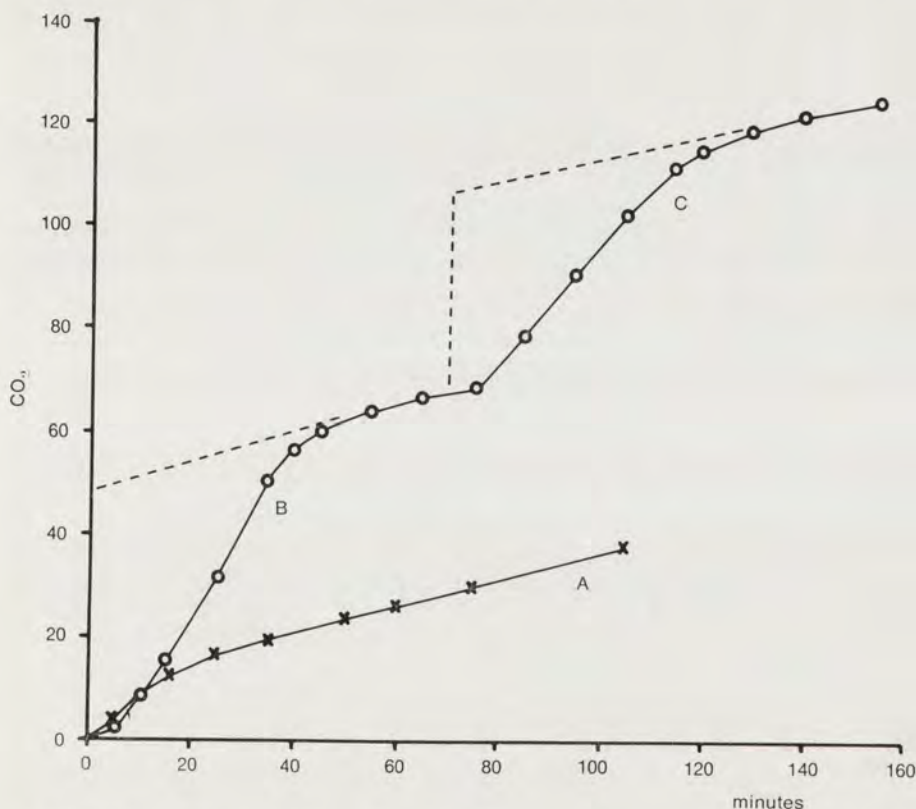


FIG. 11-1. Production de CO_2 en fonction du temps dans un jus de levure additionné de glucose (A), dans le même mélange (25 cc. de jus de levure + 25 cc. d'eau dans laquelle sont dissous 5 g de glucose) plus 5 cc. d'un mélange 0.3 M de phosphates primaire et secondaire (B) et plus une nouvelle addition de la même quantité de phosphates après 70 minutes (C) (d'après Harden et Young).

En 1897, Büchner, préparant des extraits de levure en vue d'une utilisation thérapeutique, voulut assurer leur conservation par une addition de sucre et fit une observation importante : le mélange moussait et s'enrichissait en alcool. La fermentation alcoolique sans cellules était

découverte. Notre connaissance actuelle du phénomène représente l'élaboration des résultats d'une expérience accomplie en 1906 par Harden et Young. Büchner avait observé que si on ajoutait du phosphate à du jus de levure, la production de CO_2 était augmentée : pour lui il y avait là une conséquence de la modification d'acidité.

Harden et Young observèrent qu'après une augmentation temporaire de production de CO_2 consécutive à l'addition de phosphate, l'effet s'atténua, pour reprendre si on ajoute de nouveau du phosphate ; les additions successives amènent une production d'une mole de CO_2 par mole de phosphate ajoutée et l'augmentation de production d'alcool correspond, mole pour mole, à celle de la production de CO_2 (Fig. 11-1).

D'autre part, recherchant le phosphate qu'ils avaient ajouté, Harden et Young virent qu'il n'était pas sous la forme libre, mais était combiné sous forme d'esters phosphoriques. Ils isolèrent le fructofurannose-1,6-PP (ester de Harden et Young) et dans la suite d'autres esters furent isolés de la liqueur fermentante : fructofurannose-6-P (ester de Neuberg) ; glucose-6-P (ester de Robison) et glucose-1-P (ester de Cori).

En 1905, une nouvelle découverte fondamentale fut annoncée simultanément par Büchner et par Harden et Young. Quand on dialyse un jus fermentant, la fermentation cesse dans le dialysat (appelé cozymase) et dans le résidu (appelé apoenzyme). Dans la « cozymase » ou « coenzyme » (nom d'abord donné au dialysat), on trouva des substances de la nature de nos « coenzymes », ATP, NAD, PPT.

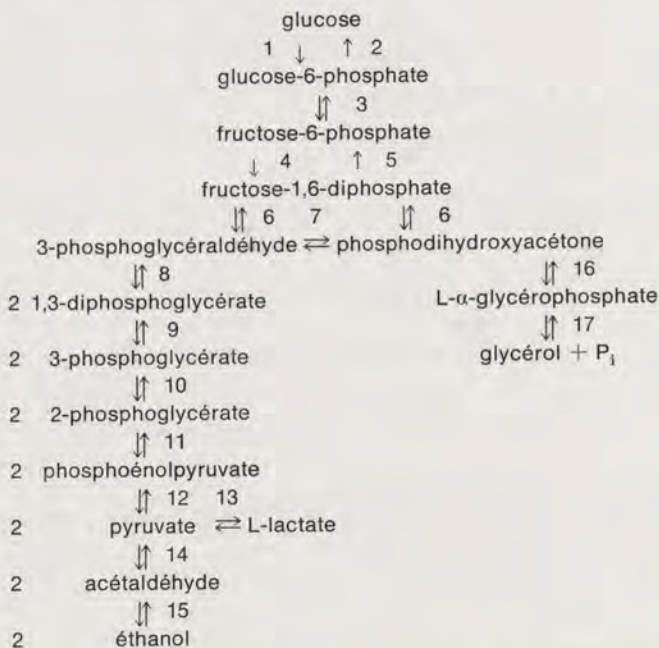


FIG. 11-2. Schéma de la glycolyse. On a figuré l'entrée du glucose. Pour les autres entrées voir figure 11-3. Deux dénouements sont représentés : celui de la fermentation alcoolique et celui de la fermentation lactique. Les chiffres placés à côté des flèches se rapportent aux enzymes catalysant les réactions.

L'action réductrice de la levure prit ensuite le premier rang de l'intérêt.

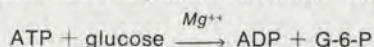
Neuberg accomplit une nouvelle expérience importante en ajoutant du bisulfite au mélange fermentant. Il observe une précipitation de bisulfite d'acétaldéhyde et une accumulation de glycérol (une mole par mole de bisulfite d'acétaldéhyde formé). Neuberg conclut que la fermentation s'accomplit par une décarboxylation de l'acide pyruvique avec formation d'acétaldéhyde, et que le glycérol contient l'hydrogène qui, dans la fermentation, réduit l'acétaldéhyde en alcool. Mais quelle était la substance qui, par hydrogénation, fournissait le glycérol ? Ce ne pouvait être qu'un triose. On a cru longtemps que c'était le méthylglyoxal, mais nous savons aujourd'hui que c'est un mélange en équilibre, de phosphoglyceraldéhyde et de phosphodihydroxyacétone.

2. Les étapes de la glycolyse.

Les résultats accumulés, notamment au cours des trois dernières décennies ont démontré que la fermentation alcoolique passe par les étapes indiquées dans la figure 11-2.

En voici le détail. Le chiffre placé entre parenthèses après le nom de l'enzyme se rapporte au chiffre identique de la figure 11-2 et indique donc que cet enzyme catalyse la réaction considérée.

a) En présence d'hexokinase (1), une molécule d'ATP, réagissant avec le glucose, forme du G-6-P. Cette réaction est une transphosphorylation à ΔF fortement négatif. Son équilibre s'établit comme suit :



avec une valeur de K voisine de $6.3 \cdot 10^2$.

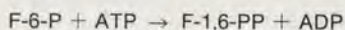
C'est donc une réaction pratiquement irréversible, et dans laquelle est perdue presque complètement l'énergie de la « liaison riche » d'ATP.

Comme la conséquence principale de la glycolyse est la synthèse d'ATP, la production de cette molécule doit donc, au cours des étapes ultérieures, dépasser la quantité investie dans cette réaction initiale.

b) En présence de l'isomérase du glucose-phosphate (3), le G-6-P se transforme rapidement en F-6-P et l'équilibre de cette réaction réversible s'écrit comme suit :

$$K = \frac{\text{F-6-P}}{\text{G-6-P}} = 0.43$$

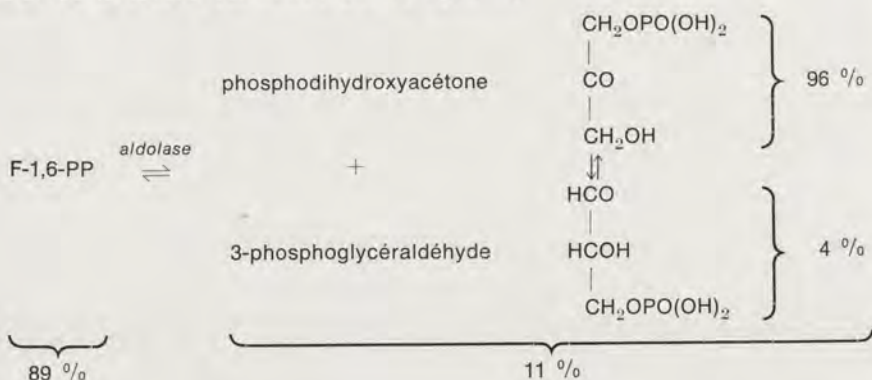
c) La phosphofructokinase (4) catalyse en présence de Mg^{++} , et très spécifiquement, le transfert du groupe terminal d'un ATP sur le F-6-P avec formation de F-1,6-PP. Ici encore, comme en a), il s'agit d'un système transphosphorylasique à ΔF fortement négatif, de sorte que l'énergie de la liaison riche d'ATP n'est pas conservée, et que la réaction est irréversible.



Cette réaction est inhibée par l'oxygène.

d) La préparation du phosphotriose, substrat de la glycolyse, s'achève par la scission entre C-3 et C-4 et en présence de l'aldolase du fructose-diphosphate (6), du F-1,6-PP en un mélange de deux triose-phosphates. L'équilibre entre l'hexose-phosphate et le mélange de triose-phosphates est réalisé dans la cellule.

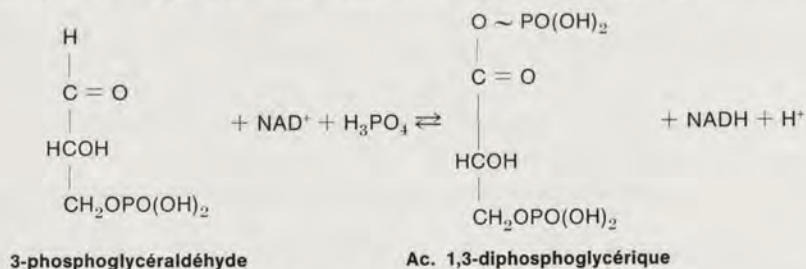
L'enzyme du muscle est inhibé par les métaux lourds alors que celui de la levure est inhibé par la cystéine.



e) La même relation de structure que l'on trouve entre le fructose et le glucose-6-phosphate, existe entre la phosphodihydroxyacétone et le 3-phosphoglyceraldéhyde. Comme dans le cas des hexose-phosphates, les deux triose-phosphates sont facilement transformés l'un dans l'autre. Cette réaction est catalysée par l'isomérase du triose-phosphate (7). L'équilibre de la réaction s'établit comme suit

$$2.2 \cdot 10^1 = \frac{(\text{phosphodihydroxyacétone})}{(\text{phosphoglyceraldéhyde})}$$

f) La molécule de glucose ayant été, au cours des opérations a) à e) transformée en un mélange de F-1,6-PP et de deux triose-phosphates, intervient la première oxydo-réduction anaérobie dans laquelle, en présence de la déshydrogénase du phosphoglyceraldéhyde (8), de NAD qui est son coenzyme, et de phosphate inorganique, il s'opère une oxydo-réduction interne dans laquelle est produite une molécule contenant une liaison riche acyl-phosphate, l'acide 1,3-diphosphoglycérique.



La constante d'équilibre de la réaction est voisine de 1.

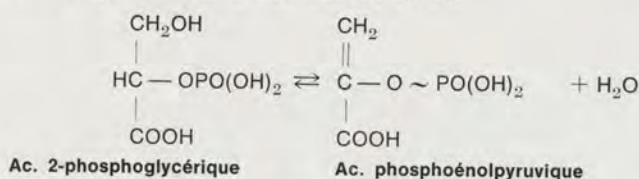
g) Cette même réaction fait progresser la dissociation de F-1,6-PP en triose-P, puisqu'elle utilise un des produits de la réaction. Elle est poussée complètement vers la droite (bien qu'étant une réaction réversible) par le fait que, en présence d'un enzyme très spécifique, la kinase du 3-phosphoglycérate (9), le composé à liaison riche qu'est l'acide 1,3-diphosphoglycérique transfère sa liaison riche sur l'ADP pour former de l'ATP et de l'acide 3-phosphoglycérique.

La constante d'équilibre de la réaction dans le sens de la synthèse de l'ATP est de $3.1 \cdot 10^3$.

h) En présence de phosphoglycéromutase (10) et en présence d'acide 2,3-diphosphoglycérique comme coenzyme, il s'opère ensuite une isomérisation de l'acide 3-phosphoglycérique en acide 2-phosphoglycérique ($K = 0.25$).

On possède actuellement des résultats indiquant que, dans les tissus animaux, une phosphoglycéromutase catalyse la transformation de l'acide 3-phosphoglycérique en acide 2-phosphoglycérique en l'absence d'acide 2,3-diphosphoglycérique.

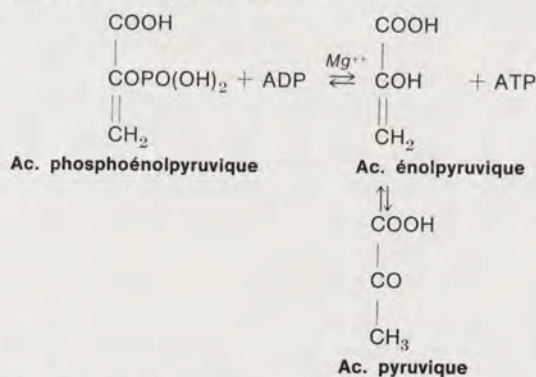
i) C'est au niveau de l'acide 2-phosphoglycérique que s'opère la deuxième oxydo-réduction interne. En présence de l'hydratase du phosphopyruvate (11), et de Mg^{++} , une molécule d'eau est enlevée avec un remaniement moléculaire générateur d'une liaison riche.



L'addition de fluorure au système a pour conséquence l'abolition de cette réaction avec accumulation d'acide phosphoglycérique. Il y a vraisemblablement formation d'un fluorophosphate de magnésium, ce qui expliquerait l'inhibition observée.

L'équilibre de la réaction dans le sens gauche-droite est voisin de 1.4, ce qui indique qu'elle est associée à une variation d'énergie libre voisine de 0.

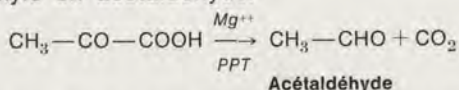
j) Le produit de la réaction précédente est l'ester phosphoré de la forme énol de l'acide pyruvique. A pH 7, l'équilibre entre les tautomères de l'acide pyruvique est largement en faveur de la forme céto. La variation d'énergie libre associée à l'hydrolyse de l'ester phosphoré de l'énol est particulièrement élevée (environ -12 Kcal M^{-1}) et suffisante pour réaliser la synthèse d'ATP à partir d'ADP.



L'acide phosphoénolpyruvique est ainsi l'acteur du deuxième transfert de phosphate, en présence de la kinase du pyruvate (12) sur l'ADP. La constante d'équilibre de la réaction considérée dans le sens de la synthèse de l'ATP est de $2 \cdot 10^3$.

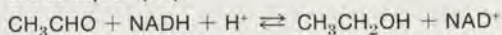
Comme toutes les kinases, la kinase du pyruvate nécessite la présence de Mg^{++} (les substrats ADP et ATP sont en fait sous la forme de complexes avec le magnésium). Il est important de remarquer que, à ce stade de la glycolyse, deux moles d'ATP sont formées par mole de glucose. Cette réaction représente donc le gain net d'ATP apparaissant au cours de la glycolyse.

k) L'acide pyruvique, en présence de décarboxylase pyruvique (14) (dont le groupement prosthétique est le pyrophosphate de thiamine, PPT) et de Mg^{++} est décarboxylé en acétaldéhyde.



La première étape de cette réaction est la formation d'un pyrophosphate d'hydroxyéthylthiamine, comme dans le cas de l'oxydation de l'acide pyruvique (p. 301). Ici toutefois, il n'y a pas transfert de la portion acétaldéhyde et le complexe se décompose en acétaldéhyde libre avec restauration du coenzyme. L'acétaldéhyde inhibe fortement la décarboxylation du pyruvate.

l) L'acétaldéhyde formé est réduit par le $\text{NADH}(\text{H}^+)$ en présence de la déshydrogénase alcoolique (15).



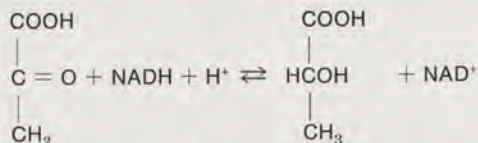
B. AUTRES DÉNOUEMENTS DE LA GLYCOLYSE

L'acide pyruvique formé au cours de la réaction décrite en j), constitue l'étape ultime des réactions glycolytiques susceptibles de produire de l'ATP. A partir de ce stade, aucune liaison riche ne peut plus être formée.

En conditions aérobies, l'acide pyruvique est décarboxylé oxydativement avec formation d'acétyl-CoA qui entre alors dans le cycle des acides tricarboxyliques (voir p. 300).

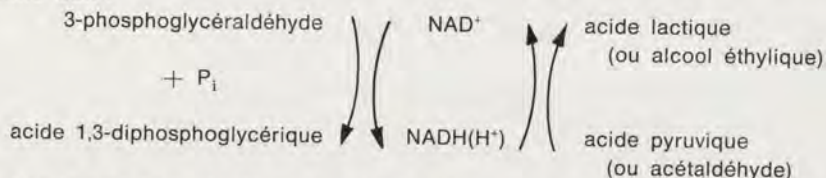
En anaérobiose, l'acide pyruvique ne s'accumule toutefois pas. Si on se souvient que la transformation du 3-phosphoglyceraldéhyde en acide 3-phosphoglycérique s'accompagne de la réduction du NAD, il apparaît qu'en présence d'oxygène, le $\text{NADH}(\text{H}^+)$ ainsi formé sera oxydé via la chaîne respiratoire mitochondriale (p. 314).

Comme la concentration intracellulaire en NAD est faible, si le $\text{NADH}(\text{H}^+)$ formé par l'oxydation du 3-phosphoglyceraldéhyde n'était pas oxydé, la glycolyse anaérobie s'arrêterait dès que tout le NAD disponible serait réduit. Nous avons vu que dans la fermentation alcoolique cette situation est évitée par la réduction à partir de $\text{NADH}(\text{H}^+)$ de l'acétaldéhyde formé.



Dans le muscle et en l'absence d'oxygène, l'acide pyruvique est réduit par le $\text{NADH}(\text{H}^+)$ avec pour résultat la production d'acide lactique [déshydrogénase lactique (13)].

La relation entre cette réaction et celle décrite en f) s'établit donc comme suit :

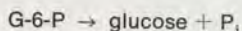


L'équilibre des réactions catalysées par les déshydrogénases lactique ou alcoolique est en faveur de la formation d'acide lactique ou d'éthanol (K voisin de 10^5). En conséquence la glycolyse se poursuit avec accumulation nette de deux moles de lactate ou d'alcool par mole de glucose.

La formation d'acide lactique représente une étape terminale du catabolisme du glucose : la seule utilisation possible du lactate est sa reconversion en pyruvate, ce qui peut se réaliser en présence d'oxygène. *In vivo*, le pyruvate et le lactate formés au cours de la glycolyse ne s'accumulent pas dans la cellule où ils ont été produits. Au cours du travail musculaire avec dette d'oxygène, l'acide lactique quitte le muscle et est repris dans la circulation.

C. AUTRES ENZYMES DE LA GLYCOLYSE

a) La réaction catalysée par la phosphatase du glucose-6-phosphate (enzyme 2 de la figure 11-2) aboutit à la formation de glucose à partir de G-6-P.



Cette réaction qui est essentiellement irréversible n'est pas l'inverse de la réaction hexokinase : le bilan de ces deux réactions est en effet l'hydrolyse de l'ATP en ADP et P_i . La glucose-6-phosphatase est présente dans les cellules du foie, de l'intestin et du rein. Le résultat de son activité est donc la production de glucose. On a suggéré que cet enzyme jouerait un rôle dans le diabète. Son activité est en effet accrue au cours de la maladie ; après administration d'insuline elle reprend sa valeur normale. L'orinase [il s'agit du 1-butyl-3-(p-tolyl-sulfonyl)-urée], un anti-diabétique administré par voie orale, inhibe *in vitro* l'activité de l'enzyme extrait du foie du rat.

b) L'hexose-diphosphatase (enzyme 5 de la figure 11-2) est présente dans le foie et le rein. Sa spécificité pour le fructose-1,6-diphosphate est très grande et son activité se traduit par la production de fructose-6-phosphate. Elle nécessite la présence de Mg^{++} ou de Mn^{++} et est inhibée par le fluorure.

c) Lors de la formation de l'acide 1,3-diphosphoglycérique, en f), du NAD est réduit. Le NADH(H^+) qui en résulte est d'abord déshydrogéné par la phosphodihydroxyacétone pour produire du 3-phosphoglycérol (déshydrogénase du 3-phosphoglycérol, enzyme 16) qu'une phosphatase hydrolyse avec production de glycérol (enzyme 17 de la figure 11-2). C'est l'explication de la production, déjà notée par Pasteur, de petites quantités de glycérol dans la fermentation alcoolique. Mais l'acétaldéhyde est un réducteur plus fort que la phosphodihydroxyacétone. Dès qu'il est présent, il prend l'hydrogène du NADH(H^+) pour former de l'éthanol.

La réaction qui vient d'être décrite est la source normale de glycérol dans la synthèse des lipides ; elle représente aussi la méthode de l'oxydation du $\text{NADH}(\text{H}^+)$ cytoplasmique par la mitochondrie.

D. PRÉLUDES À LA GLYCOLYSE

La glycolyse est essentiellement le passage du F-1,6-PP à l'acide pyruvique par l'intermédiaire d'une scission en deux triose-phosphates, de deux oxydo-réductions et de deux transferts de phosphates. C'est essentiellement une oxydo-réduction anaérobie de trioses, au niveau des substrats, avec formation de deux liaisons riches par molécules de triose.

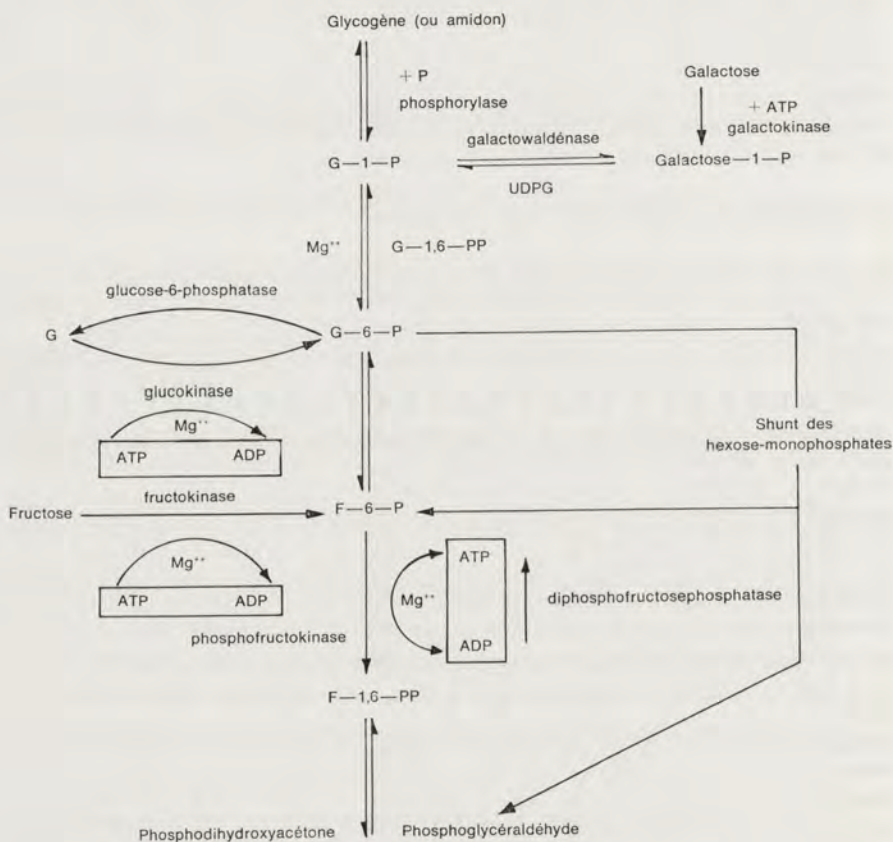


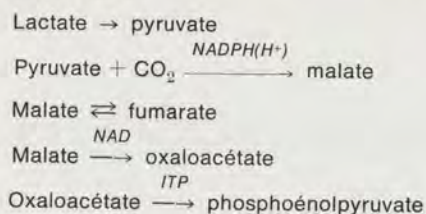
FIG. 11-3. Préluces à la glycolyse.

La glycolyse, définie comme ci-dessus, est très répandue dans les organismes constituant la biosphère. Elle présente des variantes nombreuses quant à son début. L'entrée diffère d'un glucide à un autre, comme l'illustre suffisamment la figure 11-3.

E. RENVERSEMENT DE LA GLYCOLYSE

Dans les cellules, de très nombreuses substances peuvent être converties en glycogène. Le fructose, le mannose, le galactose et le glycérol sont parmi les principaux précurseurs. A cette liste on peut ajouter des intermédiaires qui ne dérivent pas des glucides mais peuvent toutefois s'engager dans la voie de la synthèse du glycogène (gluconéogenèse). Citons les acides gras, les acides aminés et même le CO_2 . Toute molécule pouvant être à l'origine d'acétate, de pyruvate ou d'un des intermédiaires du cycle de Krebs est une source potentielle de glucides.

A partir de pyruvate (ou de lactate) la synthèse des glucides s'effectue selon la séquence suivante :



Comme on le voit, il s'agit d'une voie différente de celle empruntée par la glycolyse. Il serait théoriquement possible d'obtenir du glucose-6-phosphate par un renversement des réactions impliquant la kinase du pyruvate et la kinase du phosphoglycérate. Il apparaît toutefois que dans la réalité l'étape catalysée par la kinase du pyruvate et qui requiert du potassium, est limitante. Cette difficulté est surmontée par l'utilisation de la voie métabolique définie ci-dessus. Il s'agit d'un exemple illustrant un principe fondamental du métabolisme cellulaire et selon lequel la transformation d'un substrat A en produit B se fait le long des voies métaboliques différentes de celles empruntées lors de la transformation en sens inverse (Chap. 18).

F. FACTEURS INFLUENÇANT LA GLYCOLYSE

Le catabolisme des glucides représente la source principale d'énergie à partir de laquelle l'ATP, la monnaie courante du métabolisme, est synthétisé. La façon dont la cellule établit le contrôle de la glycolyse en fonction de ses besoins énergétiques est loin d'être comprise. C'est en fait un des problèmes les plus fascinants posés par l'évolution récente de la biologie moléculaire.

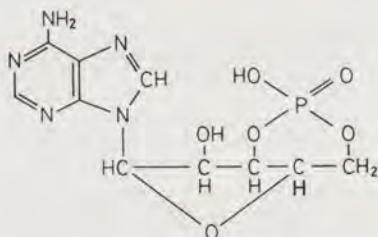
1. Rôle des phosphorylases

Puisque la forme principale de mise en réserve des glucides est le glycogène, l'attention des chercheurs s'est tout naturellement tournée vers les réactions de phosphorylation, l'hypothèse étant qu'il pourrait s'agir là des étapes décisives (voir p. 523) dans la séquence de réactions enzymatiques au cours de laquelle s'opère la fragmentation des glucides. Les phosphorylases sont en effet des enzymes qui peuvent être l'objet d'une inactivation réversible, catalysée par des enzymes présents dans les mêmes

cellules. C'est ainsi que dans le cas du muscle du lapin, on a isolé une phosphorylase du glycogène, enzyme actif, formé de deux monomères inactifs.

L'association des deux monomères en dimère est catalysée en présence d'ATP par la kinase de la phosphorylase (ATP : phosphorylase phosphotransférase, E. N. 2.7.1.38). Cette dernière réaction kinasique est elle-même contrôlée par diverses substances dont les plus significatives du point de vue qui nous intéresse sont l'épinéphrine, le glucagon, les hormones adrénocorticotropes, etc. L'action de ces substances pourrait s'expliquer, selon certains auteurs, par la formation d'un intermédiaire, le 3',5'-AMP ou AMP cyclique. Dans cette théorie, ce serait l'AMP cyclique qui, en dernière analyse, stimulerait la phosphorylase kinase.

En tout état de cause le problème est loin d'être résolu et l'hypothèse qui vient d'être exposée ouvre des perspectives nouvelles en ce qui concerne l'interprétation des actions hormonales.



Acide 3',5'-adénylique cyclique

Rappelons également que les concentrations intracellulaires en Na, K, P_i et H peuvent aussi constituer des moyens efficaces du contrôle de la vitesse des réactions intervenant dans le schéma de la glycolyse.

2. Effet Pasteur

Les cellules qui possèdent les enzymes de la glycolyse, utilisent, en présence d'oxygène, beaucoup moins de glucose. Cette observation a été faite pour la première fois par Pasteur sur des cellules de levure. On interprète actuellement ce phénomène en considérant qu'il s'agit d'une compétition entre la voie de la glycolyse et celle des oxydations mitochondriales pour des substrats communs aux deux voies métaboliques (ADP, ATP et P_i principalement).

Apparemment, dans les conditions normales, le système aérobie des mitochondries aurait une plus grande affinité ou une accessibilité plus grande aux nucléotides (voir chapitre 18).

L'effet Crabtree, réciproque de l'effet Pasteur, s'observe lorsqu'on fournit un excès de glucose à des cellules. Dans ces conditions, les oxydations mitochondriales diminuent.

Les déterminations spectrophotométriques de Britton Chance sont en faveur de l'hypothèse selon laquelle, dans les conditions d'aérobiose, le système glycolytique est appauvri en ADP et offrent ainsi un argument d'ordre expérimental en accord avec l'interprétation que nous venons de présenter pour expliquer l'effet Pasteur.

G. LOCALISATION INTRACELLULAIRE DES ENZYMES DE LA GLYCOLYSE

Les expériences de Green et de ses collaborateurs entreprises sur des hématies de bœuf et sur des cellules de la levure *Saccharomyces cerevisiae* permettent de proposer l'hypothèse selon laquelle les enzymes de la glycolyse, tout comme ceux des autres séquences métaboliques importantes, seraient localisées au niveau d'ultrastructures. Dans le cas qui nous occupe, il s'agirait du réseau de membranes intracellulaires. Au cours du fractionnement de ces cellules par divers procédés, on a pu obtenir une fraction riche en membranes et contenant la séquence complète de la glycolyse. Les résultats obtenus montrent que les liaisons impliquées dans l'association des différents enzymes formant la séquence ont une stabilité variable. Néanmoins dans des conditions bien définies d'extraction, il est possible d'obtenir une fraction capable de réaliser toutes les étapes de la glycolyse sans enrichissement préalable à l'aide d'un ou de plusieurs enzymes de la séquence.

Le tableau 11-1 donne l'activité glycolytique comparée des membranes et de l'hémolysat de globules rouges de bœuf. L'activité de la séquence est mesurée en utilisant le fructose comme substrat. Elle est estimée en mesurant la quantité de P_i estérifié.

Tableau 11-1

ETUDE COMPARÉE DE L'ACTIVITÉ GLYCOLYTIQUE DES MEMBRANES ET DE L'HÉMOLYSAT DE GLOBULES ROUGES
(d'après Green et al., 1965)

Fraction	P_i estérifié ($\mu\text{M}/10 \text{ mg protéine}$)	
	0-60 min	60-120 min
Membrane	446	325
Hémolysat	19	21

H. CONCLUSIONS

La séquence de réactions enzymatiques au cours de laquelle s'opère la fragmentation des glucides, par une voie qui ne met pas en jeu de molécules d'oxygène, s'accompagne toutefois de deux réactions d'oxydo-réduction : l'oxydation du 3-phosphoglyceraldéhyde et la réduction du pyruvate. Grâce à la participation du NAD les réactions se font en circuit fermé et ne s'accompagnent donc pas d'une oxydation ou d'une réduction nettes.

Au cours des deux réactions kinasiques 1 et 4 (Fig. 11-2) deux moles d'ATP sont consommées par mole de glucose. D'autre part l'ensemble de la séquence de réactions fournit quatre moles (deux en 9 et deux en 12, figure 11-2). Le bilan est donc la production de deux moles d'ATP.

Comme on sait que la transformation d'une mole de glucose en une mole d'acide lactique libère 56 Kcal, on peut calculer l'efficacité théorique du système. En effet, la formation d'ATP à partir d'ADP nécessite la fourniture de 8 Kcal, en conséquence l'efficacité théorique du système est voisine de 30 %.

L'expérience de Harden et Young résumée dans la figure 11-1 indique que le phosphate inorganique est nécessaire au cours de la fermentation alcoolique. L'examen détaillé des réactions impliquées dans la séquence des transformations montre que le phosphate n'intervient qu'au niveau de la réaction 8 de la figure 11-2 (cfr paragraphe A, f, p. 278).

Dans une cellule intacte, la concentration en nucléotides de l'adénine est relativement faible en comparaison de la quantité de glucose disponible. Lorsque tout l'ADP est transformé en ATP, la glycolyse s'arrête aux stades de l'acide 1,3-diphosphoglycérique et de l'acide phosphoénolpyruvique. Cette situation n'est toutefois jamais réalisée puisque les réactions endergoniques consomment continuellement de l'ATP. Dans ces conditions, l'ADP et le phosphate inorganique sont continuellement régénérés.

Ceci n'est évidemment pas le cas lorsqu'on utilise un extrait cellulaire et explique pourquoi l'adjonction de phosphate inorganique à un tel système est nécessaire pour obtenir la transformation du glucose en alcool (Fig. 11-1).

II. LE CYCLE DES PENTOSE

S'il est vrai que le schéma d'Embden-Meyerhof retrace la forme la plus générale du début du catabolisme glucidique, il existe une autre route, de nature oxydative, constituant, avec un fragment de la chaîne glycolytique, un cycle résultant de l'attache d'un shunt, à un bout sur le G-6-P, à l'autre sur le F-6-P et les triose-phosphates. Ce système multienzymatique du shunt des hexose-monophosphates, encore appelé cycle des pentoses parce qu'il montre des mécanismes de formation des pentoses, soit par décarboxylation des hexoses, soit à partir du phosphoglyceraldéhyde, apparaît comme généralement répandu dans la biosphère, mais son importance relative vis-à-vis de la glycolyse est très variable. Les différents tissus d'un organisme peuvent se distinguer sous cet aspect. Chez les mammifères, par exemple, la glycolyse l'emporte dans les muscles, et le shunt des hexose-monophosphates dans le foie.

La connaissance des diverses réactions accomplies *in vitro* au moyen d'enzymes purifiées, réunies dans le schéma de la figure 11-4, donne à la conception que résume ce schéma une confirmation expérimentale, laquelle n'exclut pas toutefois l'existence d'autres voies encore inconnues.

Le cycle comporte deux oxydations, chacune couplée avec le NADP (et non le NAD qui est en général le coenzyme requis pour la glycolyse).

La glycolyse est inhibée par le fluorure et l'iodoacétate ou le bromacétate, le premier touchant l'hydratase du phosphopyruvate et les seconds la déshydrogénase du phosphoglyceraldéhyde. En 1936, Lipmann observait qu'un extrait de levure continuait à respirer en présence de bromacétate, alors que la fermentation était bloquée par cette substance. Ceci contredisait la notion selon laquelle la respiration est nécessairement un appendice fixé à la glycolyse préalable, conduisant au pyruvate. L'année précédente, Warburg (1935) avait décrit, en même temps qu'il découvrait le

NADP, la transformation oxydative du G-6-P en acide 6-phosphogluconique dans la levure et les hématies, la déshydrogénase étant appelée par lui *Zwischenferment*. L'étude de ces phénomènes par Warburg et par Dickens montra qu'il s'agissait d'une décarboxylation oxydative avec formation de pentose-phosphate. A partir de 1950, les travaux de S. Cohen et Scott d'une part, et de Horecker et Smyrniotis d'autre part, vinrent apporter de nouvelles informations qui permirent l'identification des pentoses formés. Le ribulose-5-phosphate est le premier formé, dans l'oxydation suivie de

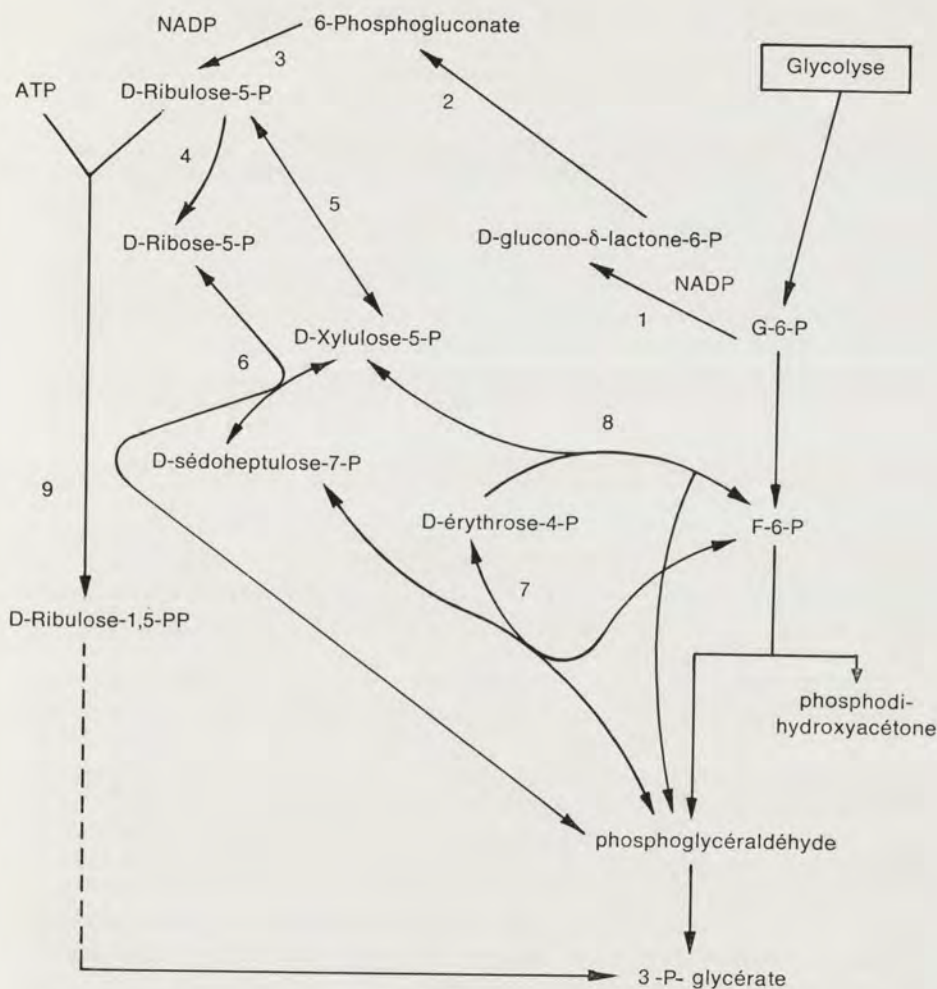
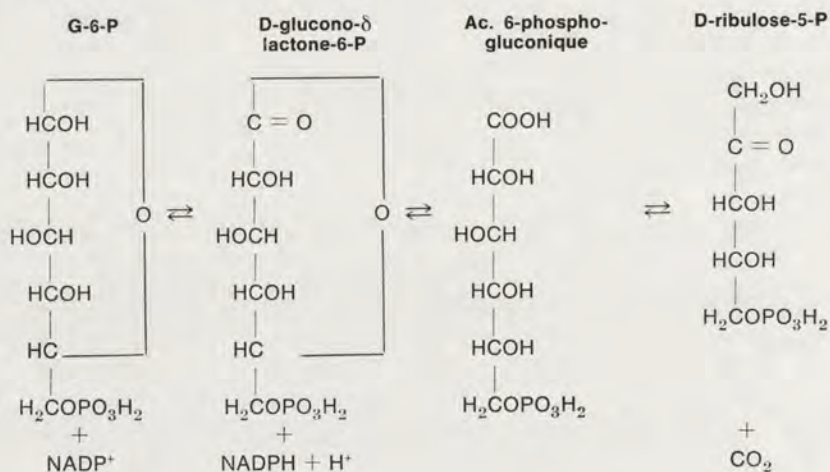
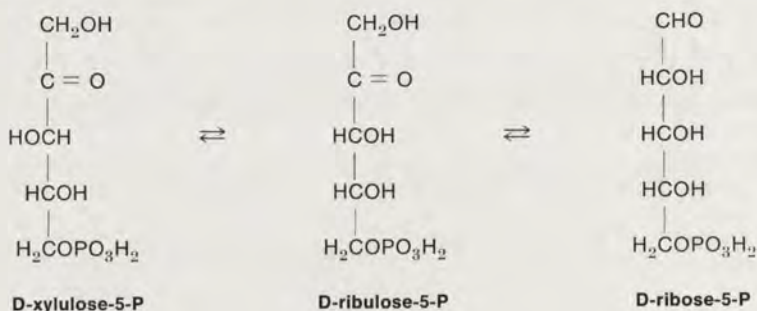


FIG. 11-4. Les diverses réactions du cycle des pentoses. Les chiffres représentent les enzymes catalysant les réactions considérées : 1. Déshydrogénase du glucose-6-phosphate. 2. Gluconolactonase. 3. Déshydrogénase du phosphogluconate. 4. Isomérase du ribose-phosphate. 5. 3-Epipimérase du ribulose-phosphate. 6. Transcétolase. 7. Transaldolase. 8. Transcétolase. 9. Phosphoribulokinase.

décarboxylation du phosphogluconate, par les préparations purifiées de déshydrogénase.



Le ribulose-5-phosphate est ensuite transformé par l'isomérase du ribose-phosphate en un mélange en équilibre de deux pentose-phosphates : ribose-P et ribulose-P.

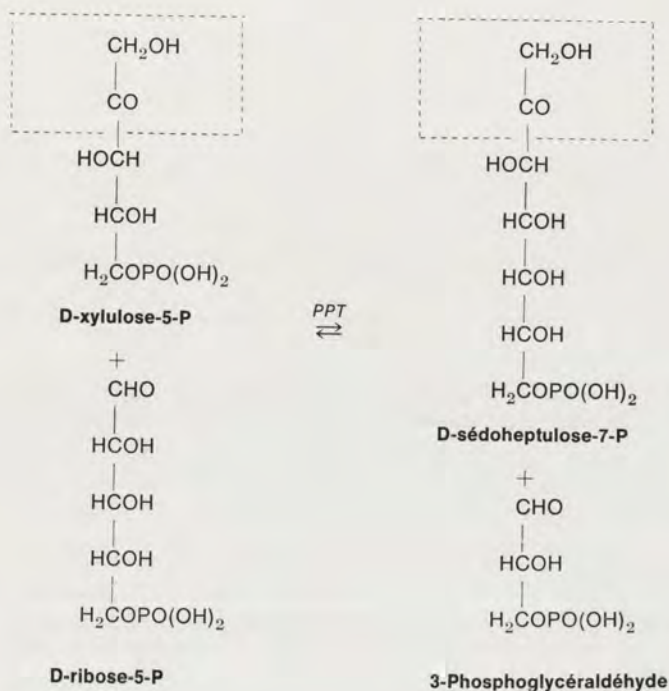


Le ribulose-5-P donne aussi naissance à un autre pentose isomère, le xylulose-5-P, grâce à l'activité de la 3-épimérase du ribulose-phosphate.

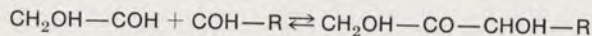
La chaîne allant de l'hexose aux pentoses est théoriquement réversible, mais elle ne peut avoir d'importance biologique que dans des circonstances très particulières.

Il n'est pas moins vrai que dans beaucoup de cas, un pentose-phosphate donne un hexose. Mais ce n'est pas par le renversement de la chaîne oxydative des hexose-monophosphates. Le phénomène qui entre en jeu est une action non oxydative de la transcéto-lase et de la transaldolase sur les pentose-phosphates. Si le ribose-5-phosphate est présent pour jouer le rôle d'aldéhyde accepteur, le ribulose-5-phosphate est rapidement transformé par un enzyme de la levure, en triose-phosphate.

Sous l'influence de la transcétolase, s'accomplit la réaction suivante :

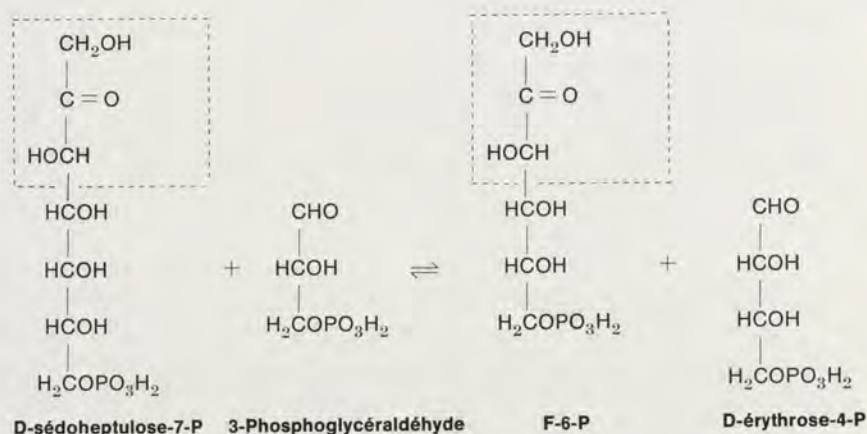


L'enzyme (transcétolase) a été purifié. Son coenzyme est le pyrophosphate de thiamine (PPT). L'enzyme a été trouvé dans la levure, les tissus animaux, les feuilles, et il est donc sans doute très important dans le métabolisme. C'est un transporteur de C_2 qu'il peut fixer sur le C-1 des aldoses (ribose-5-P, par exemple). On peut se représenter comme suit l'action du complexe enzyme-coenzyme : acceptation d'un résidu de glycolaldéhyde activé (pyrophosphate de α, β -dihydroxyéthylthiamine) et transfert de ce résidu à un autre aldéhyde.



Par ce cycle est élucidée la formation du sédoheptulose-7-P (ainsi appelé par suite de son accumulation dans les feuilles de *Sedum*, dans lesquelles manque le système enzymatique des transformations ultérieures).

Ensuite intervient une transaldolase qui transfère le groupement dihydroxyacétone du sédoheptulose à un aldéhyde accepteur (3-phosphoglyceraldéhyde) formant le fructose-6-P et laissant un phosphotétrose-P, le D-érythrose-4-P.



Une autre molécule de xylulose-5-P livrant un « glycolaldéhyde actif » au tétrase, fournit une nouvelle molécule de F-6-P (réaction 8, Fig. 11-4).

Les enzymes catalysant le cycle de la figure 11-4 se trouvent dans le cytoplasme et leur importance biologique réside dans le fait qu'il s'agit d'un système permettant la transformation d'une molécule de glucose en CO_2 sans passer par le cycle de Krebs. Ce système est en outre un producteur important de NADP red, utilisé dans la synthèse des acides gras et dans de nombreux systèmes d'oxydo-réduction. Comme l'indique la figure 11-5 le cycle des pentoses ne peut pas être considéré comme une séquence de réactions aboutissant, à partir de G-6-P à la production de six molécules de CO_2 . En fait, on doit considérer le passage de six molécules d'hexoses à travers le cycle pour expliquer la conversion nette d'un hexose-phosphate en six molécules de CO_2 . Le schéma de la figure 11-5 indique le sort de chaque atome de carbone des six molécules d'hexose s'engageant dans le cycle.

Signalons enfin que la partie du cycle des pentoses qui ne comprend pas les réactions de déshydrogénation représente une séquence de réactions jouant un rôle important dans l'entrée du carbone dans la biosphère par la voie de la photosynthèse (Chap. 13).

III. LA VOIE MÉTABOLIQUE DE L'ACIDE GLUCURONIQUE

Au cours des dernières années on a proposé une nouvelle voie métabolique suivie par le glucose et aboutissant selon l'espèce animale considérée au L-xylulose et à l'acide L-ascorbique (Fig. 11-6).

Selon le schéma proposé l'acide gulonique sert de précurseur au L-xylulose et à l'acide L-ascorbique. Tous les animaux sont capables de métaboliser l'acide gulonique via le L-xylulose. Les primates et le cobaye sont les seuls à ne pouvoir transformer l'acide L-gulonique en acide ascorbique.

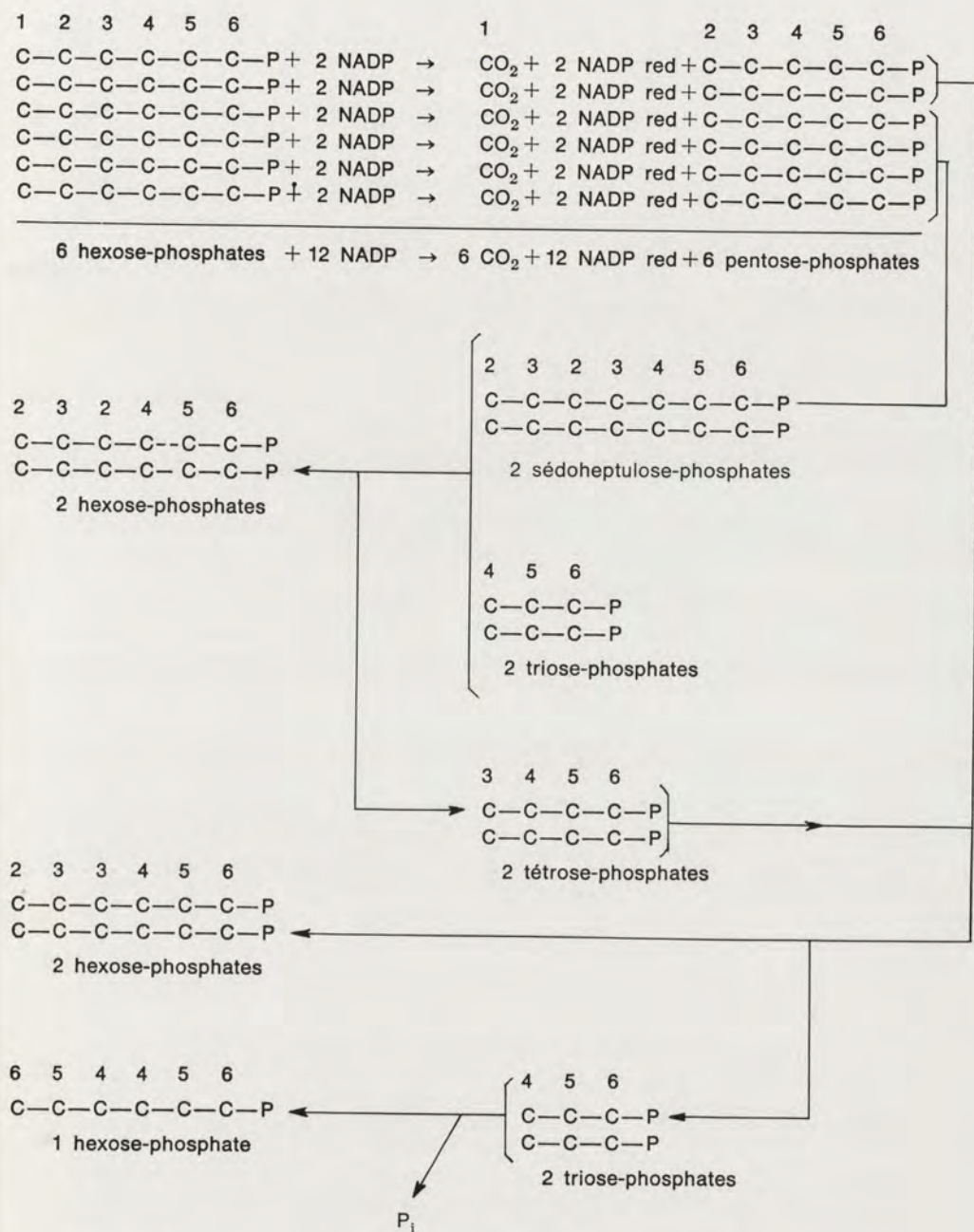


FIG. 11-5. Représentation schématique du passage de 6 molécules d'hexose-monophosphate dans le cycle des pentoses. Les chiffres se rapportent à la position des atomes de carbone dans la molécule d'hexose (d'après B. Axelrod).

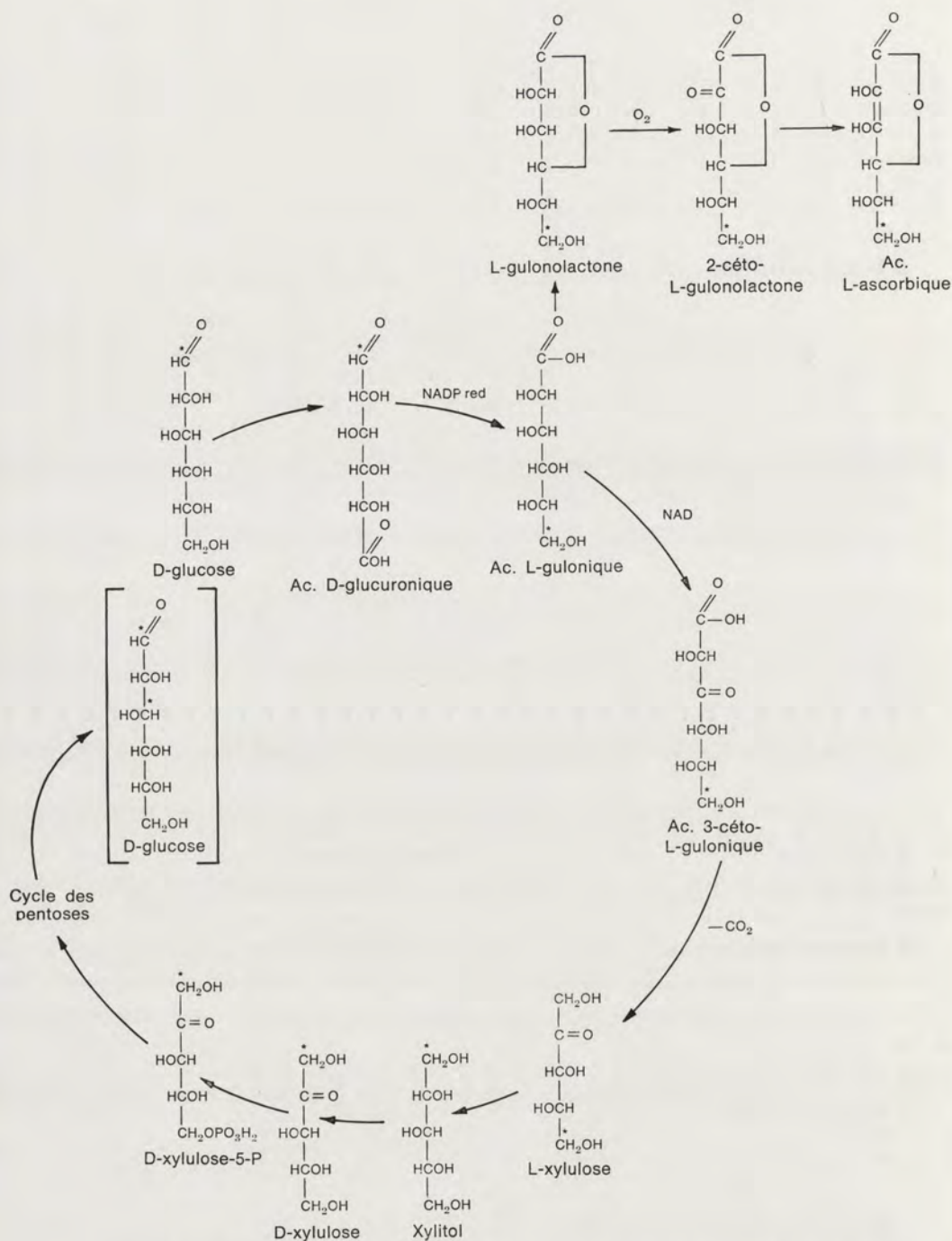


FIG. 11-6. La voie métabolique de l'acide glucuronique. L'astérisque permet de suivre le sort du C-1 du glucose (d'après Burns).

La voie métabolique de l'acide glucuronique représente donc une voie oxydative du glucose différente du shunt des hexose-monophosphates en ce que le glucose est oxydé en C-6 pour former de l'acide D-glucuronique au lieu d'être oxydé en C-1 pour former de l'acide D-gluconique. L'oxydation du glucose en C-6 ou en C-1 aboutit néanmoins au cycle des pentoses.

On sait que l'acide ascorbique trouve son origine dans le glucose et réciproquement, cet acide peut constituer un intermédiaire d'une voie métabolique aboutissant au glucose (Fig. 11-7).

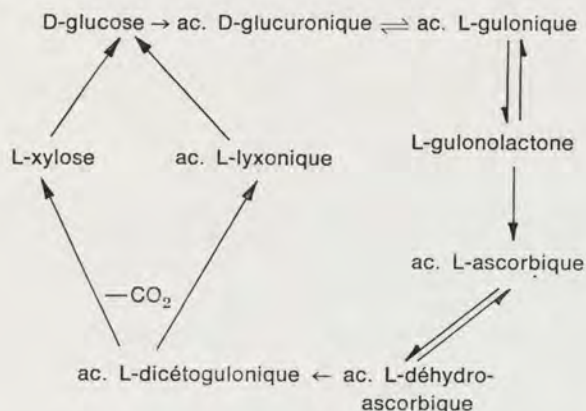


FIG. 11-7. Rôle de l'acide L-ascorbique dans le métabolisme du glucose (d'après Burns).

On peut donc considérer que l'acide L-ascorbique est un intermédiaire dans le métabolisme des oses. Le fait que les primates et le cobaye sont incapables de transformer la L-gulonolactone en acide L-ascorbique est vraisemblablement le résultat de l'absence du gène contrôlant la synthèse de l'enzyme catalysant la réaction. Chez ces espèces, le scorbut, c'est-à-dire la maladie résultant de la carence d'acide L-ascorbique (ou vitamine C) dans le régime, doit donc être considéré comme étant le résultat d'un trouble du métabolisme des oses.

Signalons enfin que le L-xylulose présent dans l'urine des patients incapables de métaboliser cette molécule (pentosurie) trouve son origine dans la voie métabolique de l'acide glucuronique.

A CONSULTER

GREEN, D. E., MURER, E., HULTIN, H. D., RICHARDSON, S. H., SALMON, B., BRIERLEY, G. P. et BAUM, H., Arch. Biochem. Biophys., 1965, **112**, 635.

Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 1 (1960), 3 (1962), 7 (1964). Academic Press, New York.

Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 15. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1964.

Metabolic pathways, 2nd edit. of Chemical pathways of metabolism (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 1. Academic Press, New York, 1960.

CHAPITRE 12

La mitochondrie

I. Le cycle de l'acide citrique	298
A. Les étapes du cycle	300
1. Origine de l'acétyl-CoA	300
2. Acétyl-CoA + oxaloacétate	302
3. Citrate, cis-aconitate et isocitrate	303
4. α -cétoglutarate	304
5. Succinate	305
6. Fumarate	306
7. L-malate	306
8. Oxaloacétate	306
B. Sort des deux carbones de l'acétate au cours d'un tour du cycle	307
II. Le cycle oxydatif des acides gras	307
A. Les étapes du cycle	310
1. Activation de l'acide gras	310
2. Première déshydrogénation	311
3. Hydratation	311
4. Deuxième déshydrogénation	311
5. Clivage thiolitique	312
B. Sort du propionyl-CoA	312
C. ω -oxydation	313
D. Formation et oxydation des corps cétoniques	314
III. La chaîne respiratoire	314
A. Les éléments de la chaîne respiratoire	318
1. Les nucléotides de l'adénine	318
2. Les flavoprotéines	318
3. L'ubiquinone ou coenzyme Q	319
4. Les cytochromes	322
5. Autres constituants de la chaîne respiratoire	327

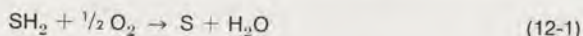
B. Reconstitution de la chaîne respiratoire	328
C. Les phosphorylations de la chaîne respiratoire	328
D. Renversement des phosphorylations de la chaîne respiratoire	330
E. Conversion de l'énergie d'oxydo-réduction en ATP	331
1. Aspect thermodynamique du problème	331
2. Nombre d'électrons transférés	335
IV. Contrôle de l'activité de la mitochondrie	335
A. Contrôle de la respiration	335
1. Rôle de l'ADP	335
2. Rôle de l'ATP	337
3. Rôle du système D- β -hydroxybutyrate-acétoacétate	337
B. Contrôle du cycle de Krebs	338
C. Les compartiments de la mitochondrie	338
D. Intégration de la glycolyse et de la respiration	339
V. Utilisation de l'énergie libre dans la mitochondrie	340
A. Transport actif et travail mécanique	340
B. Biosynthèse des acides gras dans la mitochondrie	341
C. Biosynthèse des protéines dans la mitochondrie	342
VI. Ultrastructure de la mitochondrie	347
VII. Formation et origine de la mitochondrie	349

L'énergie contenue dans les substances nutritives est libérée au cours d'une série de transformations qui peuvent être schématiquement classées en trois catégories.

Dans une première phase les osides sont convertis en hexoses, les protéines en acides aminés et les lipides en glycérol et acides gras. L'énergie libérée au cours de cette première phase est peu importante. Elle est libérée sous forme de chaleur.

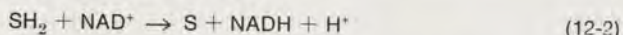
Dans une deuxième phase, les hexoses, les acides aminés, les acides gras et le glycérol sont transformés en acétyl-CoA, en α -cétoglutarate et en oxaloacétate. Ces trois substances intermédiaires sont alors, au cours d'une troisième phase, oxydées en CO_2 et en H_2O . C'est au cours des deux dernières phases que la libération d'énergie est la plus importante et plus

particulièrement lorsque, à partir du substrat réduit (SH_2) et de l'oxygène, l'eau est formée :

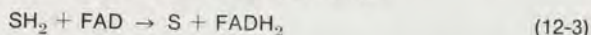


La variation d'énergie libre standard dans les réactions d'oxydation des phases II et III est comprise entre -35 et -70 Kcal par mole de substrat.

Dans de nombreux cas, le substrat est oxydé par les dinucléotides de l'adénine, nicotinamide-adénine dinucléotide (NAD) ou nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate (NADP). On a alors :

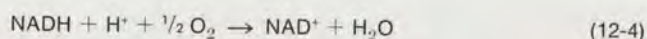


Ainsi, au cours de la glycolyse, l'oxydation du phosphoglyceraldéhyde, du lactate et du pyruvate aboutit à la formation de dinucléotide réduit. Il en est de même lors de l'oxydation du glycérol, des thioesters des acides gras β -hydroxy, du malate, de l'isocitrate et de l' α -cétoglutarate. Dans d'autres cas l'agent oxydant est une flavoprotéine (FAD par ex.) :



L'oxydation du succinate, des thioesters des acides gras et la désamination oxydative des acides aminés sont des exemples illustrant la réaction (12-3).

La variation d'énergie libre standard dans les réactions du type (12-2) et (12-3) est de l'ordre de -10 à $+10$ Kcal par mole. Par contre la variation d'énergie libre accompagnant une réaction du type (12-1) est très importante mais provient en fait de l'oxydation par l'oxygène du coenzyme réduit selon l'équation générale :



Au cours de cette réaction, le ΔF° est voisin de -52 Kcal M^{-1} . Cette quantité importante d'énergie est rendue disponible pour l'activité cellulaire grâce à la formation de dérivés phosphorylés « riches en énergie » au cours des transferts d'électrons du coenzyme réduit à l'oxygène moléculaire. Cette quantité d'énergie est libérée progressivement à chaque étape du transport d'électrons le long de la chaîne des cytochromes et est récupérée à des niveaux bien définis dans les réactions de synthèse de l'ATP. Ce mécanisme constitue ce qu'on appelle généralement les phosphorylations oxydatives. C'est évidemment un terme impropre, malheureusement consacré par l'usage. Nous savons en effet qu'au cours des réactions de la glycolyse, quatre moles d'ATP sont formées, ce qui constitue un gain net de deux moles puisque deux moles d'ATP ont été consommées au cours des réactions kinasiques.

D'autre part, une des étapes du cycle de Krebs (voir p. 305), celle qui aboutit à la formation de succinate, produit également au cours d'une réaction d'oxydo-réduction, une mole d'ATP.

Il est donc plus logique de qualifier d'oxydatives toutes les réactions de phosphorylation liées à une réaction d'oxydation, et de réserver l'expression « phosphorylations de la chaîne respiratoire », à celles qui sont directement dépendantes de la présence d'oxygène dans le milieu. Les réactions principales de la phase III décrite plus haut, sont accomplies à l'interven-

tion d'un groupe d'enzymes localisés dans un organite intracellulaire, hautement différencié, la mitochondrie, qui reçoit du cytoplasme les substrats qui seront l'objet de transformations aboutissant à leur dégradation en CO_2 et H_2O .

Ces transformations comprennent des réactions de déshydrogénation et les électrons enlevés au substrat se déplacent le long d'une chaîne de transporteurs d'électrons pour aboutir à l'accepteur final, l'oxygène.

L'énergie libérée par ces réactions successives est emmagasinée sous forme d'ATP. Ainsi donc les substrats, l'oxygène, l'ADP et le phosphate inorganique pénètrent dans la mitochondrie alors que l'ATP, le CO_2 et l'eau formée quittent cette structure.

Les transferts d'énergie dont la mitochondrie est responsable ne peuvent se concevoir qu'au niveau de structures possédant un haut degré de complexité. Pour comprendre le fonctionnement de cette machine biochimique qu'est la mitochondrie, il est nécessaire de savoir de quoi elle est faite et comment ses différentes pièces sont assemblées.

I. LE CYCLE DE L'ACIDE CITRIQUE

Les mitochondries, quelle que soit leur origine (animale, végétale ou microorganismes) couplent l'oxydation du pyruvate à la synthèse de l'ATP à partir d'ADP et P_i par l'intermédiaire du cycle de l'acide citrique, dit aussi cycle de Krebs ou encore cycle des acides tricarboxyliques. Cette série de réactions fournit les électrons au système qui accomplit la réduction de l'oxygène alors que l'ATP est formé.

La connaissance de ce cycle a son point de départ dans des expériences faites par Szent-Györgyi sur une pâte de muscle pectoral de pigeon. Cette pâte respire d'abord activement sans produire d'acide lactique. La respiration, d'abord intense, diminue avec le temps. Parallèlement à la chute de l'activité respiratoire, la teneur en succinate de la pâte de muscle diminue, mais l'addition de faibles quantités de succinate (ou de fumarate) permet d'augmenter l'intensité de la respiration. Comme le quotient respiratoire est égal à 1, on peut en conclure que la respiration est alimentée par des glucides. Il résulte de ces observations que l'oxydation des glucides est catalysée par le succinate et le fumarate et que la succinodéshydrogénase doit y jouer un rôle important, puisque le malonate bloque l'effet stimulant du succinate.

Dans la suite, les travaux de Krebs, de Martius, de Knoop et d'Ochoa ont permis de préciser et d'étendre les découvertes fondamentales de Szent-Györgyi et ont abouti à la formulation du cycle de la figure 12-1 dans laquelle les principaux intermédiaires du cycle de l'acide citrique sont représentés.

Le cycle commence par la condensation de l'acétyl-CoA avec l'oxaloacétate ce qui fournit un acide tricarboxylique à six carbones, l'acide citrique.

La perte et le gain successifs d'une molécule d'eau amènent un réarrangement de la molécule en acide isocitrique, lequel est alors oxydé en acide

oxalosuccinique. Par décarboxylation, on obtient alors de l' α -cétylglutarate qui, après une décarboxylation oxydative, produit du succinate. L'oxydation de cette molécule aboutit à l'acide fumarique qui, hydraté, puis oxydé, donne de nouveau une molécule d'acide oxaloacétique.

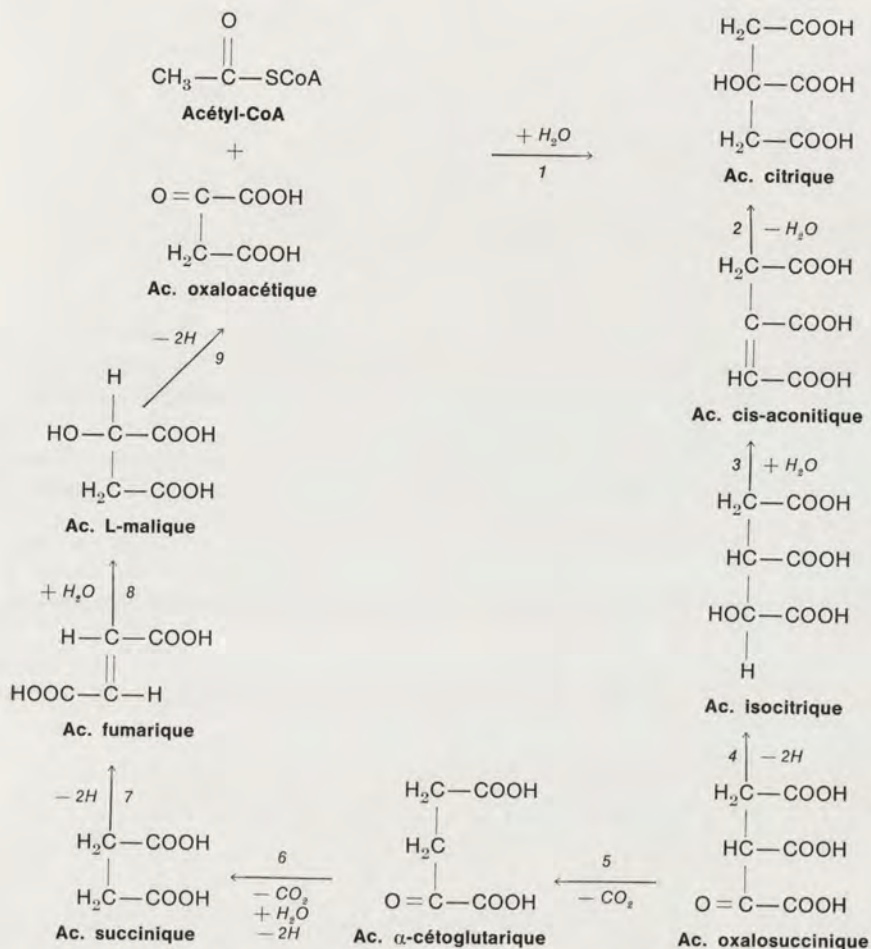
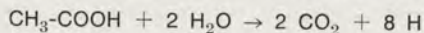


FIG. 12-1. Principaux intermédiaires du cycle de Krebs.

Pour chaque tour du cycle une mole d'acétyle est utilisée et deux moles de CO_2 sont produites. L'acide oxaloacétique qui est utilisé dans la réaction initiale de condensation est régénéré, ce qui assure le fonctionnement répétitif du cycle pour autant que l'acétyl-CoA continue à être fourni et que les atomes d'hydrogène et le CO_2 soient déplacés (Fig. 12-2).

Le résultat net d'un tour du cycle peut donc se représenter comme suit :



Il y a cinq étapes oxydatives dans le cycle (formation d'acétyl-CoA et réactions 4, 6, 7, 9, Fig. 12-1) qui, à l'exception de la réaction 7, ayant pour

coenzyme une flavoprotéine, aboutissent à la réduction des dinucléotides de l'adénine.

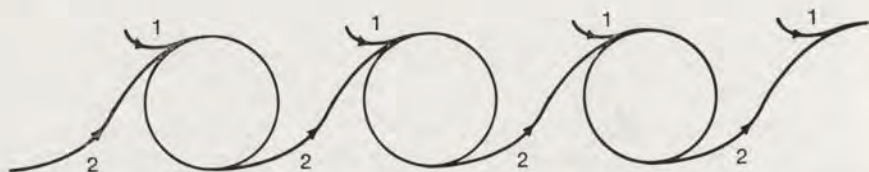


FIG. 12-2. Schéma illustrant le caractère répétitif du cycle des acides tricarboxyliques.
1 = acétyl-CoA ; 2 = oxaloacétate.

A. LES ÉTAPES DU CYCLE DES ACIDES TRICARBOXYLIQUES

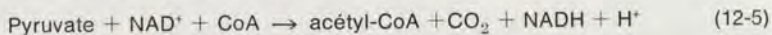
Les mitochondries isolées à partir du foie, du rein ou du muscle d'animaux supérieurs, de même que celles isolées à partir d'organismes monocellulaires, possèdent l'équipement complet nécessaire à l'oxydation du pyruvate ou des acides gras via le cycle de Krebs. Le milieu de suspension doit contenir, outre les substrats, pyruvate ou acides gras, du Mg^{++} , de l'ADP et du phosphate inorganique (P_i). On ajoute parfois du malate ou de l'oxaloacétate, comme amorce du cycle, bien que ces molécules puissent être formées à partir de précurseurs plus simples.

On trouve donc dans la mitochondrie isolée les enzymes, les coenzymes et les métaux essentiels aux différentes réactions que nous allons maintenant examiner plus en détail.

1. Origine de l'acétyl-CoA

La première réaction du cycle de Krebs fait intervenir l'acétyl-CoA. Cette molécule est formée grâce à l'activité d'un système complexe comprenant trois ou quatre enzymes et qui porte le nom de système de la déshydrogénase pyruvique. Le système nécessite la participation de l'acide α -lipoïque et du pyrophosphate de thiamine.

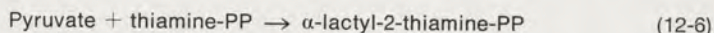
La réaction générale peut s'écrire



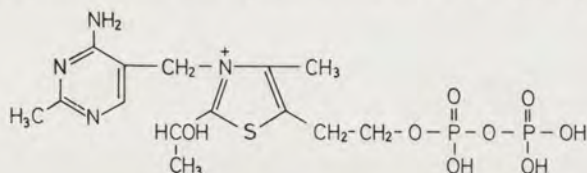
Le NADH formé entre dans la chaîne respiratoire (p. 314) alors que l'acétyl-CoA peut entrer dans le cycle en se condensant avec l'oxaloacétate pour donner du citrate. Cette réaction est beaucoup plus complexe qu'il n'apparaît à la considération de l'équation (12-5). Beaucoup de travaux ont été consacrés à l'étude du rôle précis de l'acide α -lipoïque et du pyrophosphate de thiamine dans le mécanisme de la décarboxylation oxydative du pyruvate.

On considère actuellement que le pyruvate se combine au pyrophos-

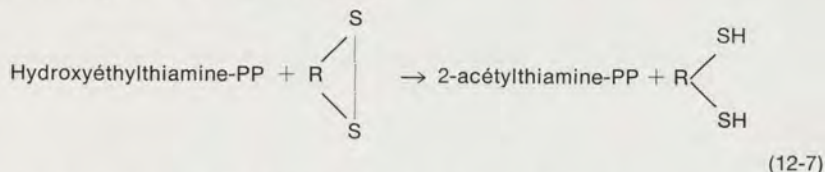
phate de thiamine de la carboxylase pyruvique pour former le pyruvate activé ou pyrophosphate de l' α -lactyl-2-thiamine



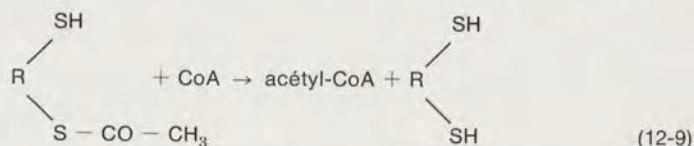
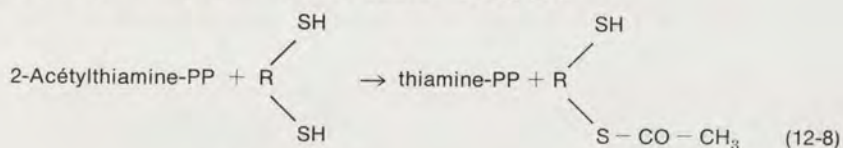
Cet intermédiaire, fixé à l'enzyme, est peu stable et devient par décarboxylation, l'acétaldéhyde activé ou pyrophosphate de la 2-hydroxyéthylthiamine



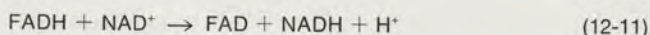
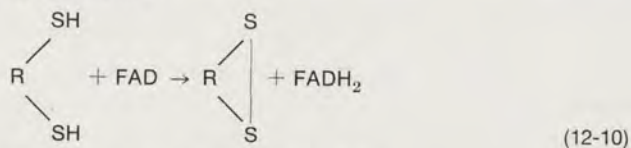
Cet intermédiaire serait alors oxydé au niveau de la fonction hydroxyéthyle pour former un dérivé acétylé de la thiamine, réaction possible grâce à la participation du cycle disulfure du groupe α -lipoyle de l'enzyme en qualité d'accepteur d'électrons (p. 56) :



Le groupe acétyle est alors transféré de la thiamine sur la fonction α -lipoyle réduite pour former un thioester qui devient un donneur d'acétyle dans une réaction faisant intervenir le CoA comme accepteur



Les électrons passent alors sur le NAD et la chaîne respiratoire via la flavoprotéine α -lipoyle déshydrogénase



Les enzymes catalysant ces réactions forment un complexe de poids moléculaire voisin de 4 000 000 qui peut être scindé en deux fragments,



l'un catalysant les réactions (12-6) à (12-9), l'autre catalysant les réactions (12-10) et (12-11).

Comme on peut le voir, le groupe α -lipoyle est impliqué dans quatre réactions distinctes : une oxydation, deux transferts de groupe acyle et une réduction de flavoprotéine. A ce stade la réaction est complète, le pyruvate a été oxydé en acétyl-CoA + CO₂, le pyrophosphate de thiamine a complété son cycle catalytique et le groupe α -lipoyle, à l'origine une lipoamide sous forme disulfure, retourne à cet état au cours de la réaction (12-10).

2. Acétyl-CoA + oxaloacétate

Il s'agit de la première étape du cycle de Krebs proprement dit. Au cours de cette réaction de condensation, le citrate est formé

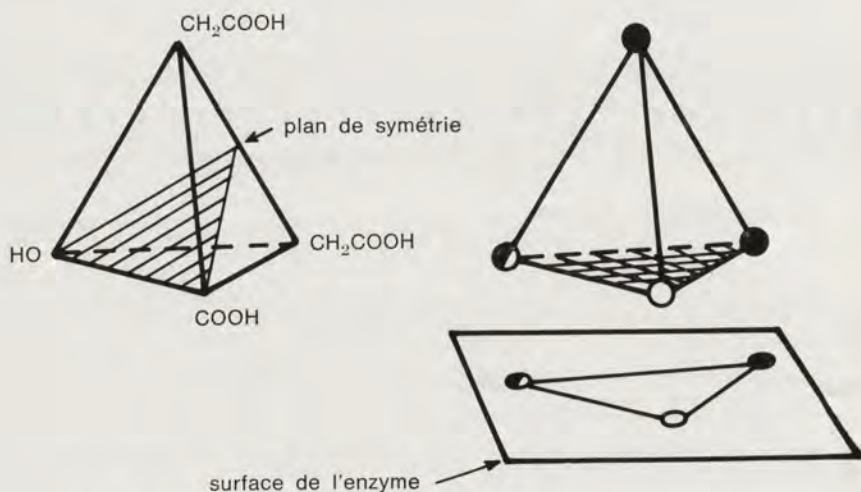
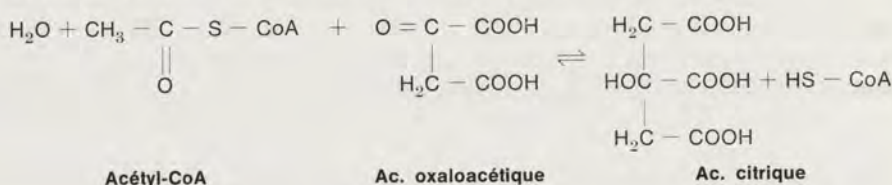


FIG. 12-3. Mode de fixation de l'acide citrique à la surface de l'enzyme mettant en évidence l'asymétrie des deux groupes -CH₂COOH par suite de l'existence de 3 points d'attache (Ogston).

L'équilibre de la réaction est déplacé vers la droite et la variation d'énergie libre standard est voisine de -8 Kcal M^{-1} ($K = 5 \cdot 10^5$).

Dans la mitochondrie, une autre réaction impliquant l'acétyl-CoA et l'oxaloacétate, aboutit à la formation de malonyl-CoA, un précurseur de la synthèse des lipides. D'autres réactions, importantes dans l'activité biosyn-

thétique de la mitochondrie, et faisant intervenir le cycle de Krebs, sont décrites ailleurs.

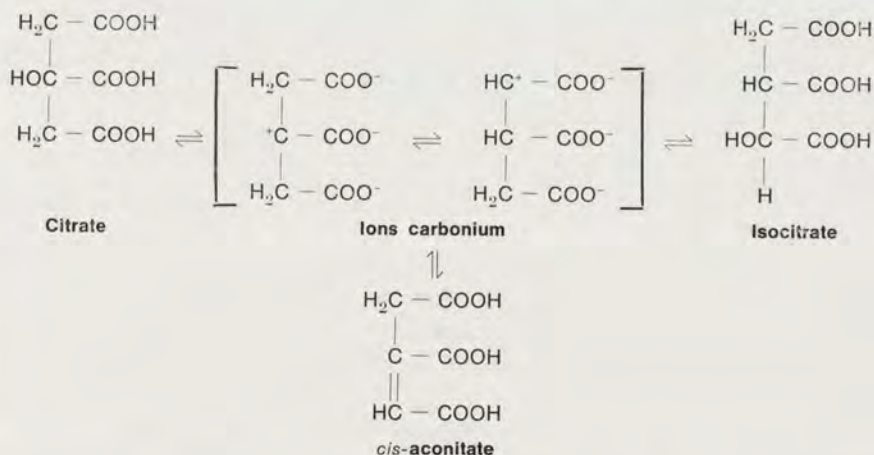
L'acide citrique, n'ayant pas de carbone asymétrique substitué, n'a pas d'activité optique. On pourrait donc croire que l'introduction d'acétyl- $1\text{-}^{14}\text{C}$ -CoA dans le cycle devrait aboutir à un marquage égal des deux carboxyles de l'acide α -cétoglutarique. Or il n'en est rien et le produit recueilli est en fait essentiellement marqué sur le carbone du carboxyle γ .



Cette observation s'explique facilement si on postule que les deux groupes $\text{—CH}_2\text{COOH}$ de l'acide citrique ne sont pas géométriquement équivalents. Ce fait est apparent à la considération de la figure 12-3 qui montre, outre l'asymétrie géométrique des deux groupes $\text{—CH}_2\text{COOH}$, la façon dont le substrat se fixe par trois points sur l'enzyme.

3. Citrate, cis-aconitate et isocitrate

L'aconitase est un enzyme facilement extrait de la mitochondrie et qui catalyse réversiblement l'interconversion du citrate, du cis-aconitate et de l'isocitrate au cours de réactions d'hydratation et de déshydratation. Des expériences réalisées à l'aide d'isotopes ont mis en évidence l'existence d'un intermédiaire commun, probablement un ion carbonium, attaché à l'enzyme.



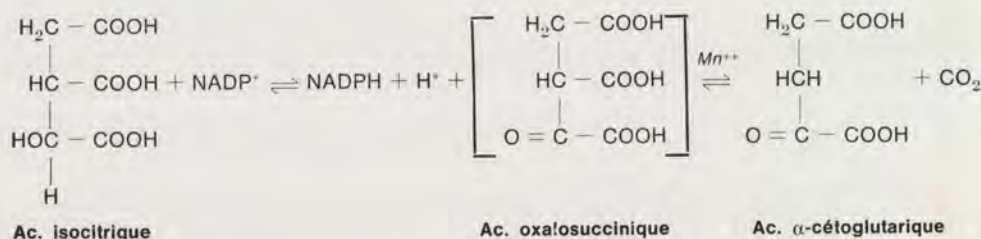
Pour son activité maximum l'enzyme réclame la présence de glutathion réduit et d'ions Fe^{++} . A l'équilibre, on trouve approximativement 90 % de citrate, 7 % d'isocitrate et 3 % de cis-aconitate. En se basant sur les considérations stériques décrites dans la figure 12-3, il est raisonnable de postuler que le

citrate se fixe sur l'aconitase par trois points d'attache avant d'être déshydraté pour donner du cis-aconitate. On sait aussi que le citrate peut fournir de l'isocitrate sans production de cis-aconitate comme intermédiaire libre.

4. α -cétooglutarate

Bien que l'équilibre de la réaction précédente s'établisse en faveur de la formation de citrate, la séquence des réactions s'accomplit dans le sens de la production d'isocitrate, grâce à la présence de la déshydrogénase de l'acide isocitrique qui oxyde ce dernier substrat en α -cétooglutarate et CO_2 . Le ΔF° de cette dernière réaction est de -5 Kcal M^{-1} . Les électrons sont transférés aux dinucléotides de l'adénine et on a décrit deux enzymes, l'un spécifique pour le NAD, l'autre pour le NADP.

La déshydrogénase isocitrique liée au NADP catalyse réversiblement la réaction et peut donc fixer du CO_2



L'acide β -cétonique formé après la déshydrogénation ne quitte pas la surface de l'enzyme ; l'étape suivante, la décarboxylation, s'accomplit immédiatement. En l'absence de Mn^{++} cette réaction est lente et devient limitante.

Si on ajoute au système un acide β -cétonique, de l'oxalosuccinate par exemple, on observe une production de CO_2 , pour autant que Mn^{++} soit présent.

On considère que la décarboxylation est catalysée par la formation d'un complexe de chélation instable entre l'enzyme, l'acide β -cétonique et le Mn^{++} .

L'enzyme lié au NAD nécessite la présence d'acide adénylique. Il ne catalyse la réaction que dans le sens de la formation d' α -cétooglutarate et en outre, il ne peut catalyser la décarboxylation de l'oxalosuccinate ajouté au milieu d'incubation.

On pense généralement que la réaction catalysée par l'enzyme lié au NADP est la voie principale suivie dans la mitochondrie.

Le NADP réduit formé dans cette réaction n'intervient pas immédiatement dans la chaîne respiratoire. Au contraire, au cours d'une réaction de transhydrogénation, il y a réduction du NAD :



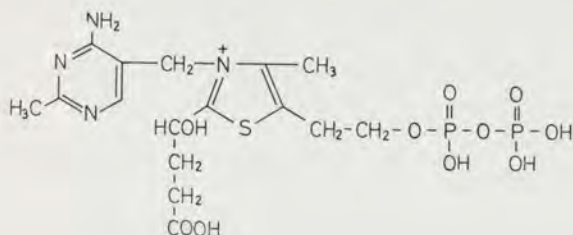
L' α -cétooglutarate est un point de convergence important dans le métabolisme des oses, des lipides et des acides aminés. Par transamination, le glutamate donne de l' α -cétooglutarate et tous les acides aminés qui, au cours de leur métabolisme, peuvent donner du glutamate sont des précurseurs possibles de l' α -cétooglutarate. C'est le cas de l'ornithine, de la proline,

de l'histidine et de l'amide glutamine (Chap. 14). Inversement, l' α -céto-glutarate produit dans le cycle de Krebs est à l'origine du glutamate et de ses dérivés.

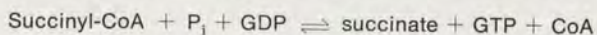
5. Succinate

L'oxydation de l' α -céto-glutarate suit le même cours que celle du pyruvate. Il s'agit d'une série de réactions complexes dans lesquelles interviennent le pyrophosphate de thiamine, le CoA et le groupe α -lipoyle. NAD est l'accepteur final d'électrons. L'enzyme responsable fait partie d'un complexe de poids moléculaire élevé et la réaction catalytique a un ΔF° voisin de -8 Kcal M^{-1} .

L' α -céto-glutarate, comme dans le cas du pyruvate, se fixe sur l'enzyme avec le pyrophosphate de thiamine et forme un semi-aldéhyde succinique activé. L'intermédiaire formé au cours de la décarboxylation est le pyrophosphate du 2-hydroxy-4-carboxypropylthiamine



La chaîne à quatre carbones est alors transférée sur l'acide lipoïque fixé à l'enzyme pour former un complexe succinyl- α -lipoyl-enzyme. Le groupe succinyle est transféré sur le CoA avec formation de succinyl-CoA. La déacylation se fait suivant deux voies. La plus habituelle est celle qui implique un clivage phosphorolytique dont le mécanisme est très complexe :



où GDP et GTP représentent le di- et le triphosphate de guanosine. Cette réaction constitue ce qu'on appelle une phosphorylation au niveau du substrat. Elle n'est pas inhibée par le 2,4-dinitrophénol et est catalysée par la thiokinase de l'acide succinique. En présence de la kinase du nucléoside-diphosphate, de l'ATP est formé selon le schéma :



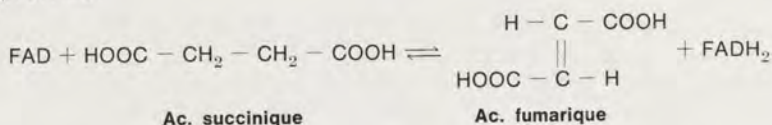
Alternativement le CoA du succinyl-CoA peut être transféré sur l'acétoacétate, particulièrement dans les mitochondries du rein et du muscle :



Cette réaction est un point de convergence entre le cycle de Krebs et l'oxydation des corps cétoniques (p. 314).

6. Fumarate

La déshydrogénase de l'acide succinique catalyse l'oxydation du succinate en fumarate. C'est une réaction dont le coenzyme est une flavoprotéine.

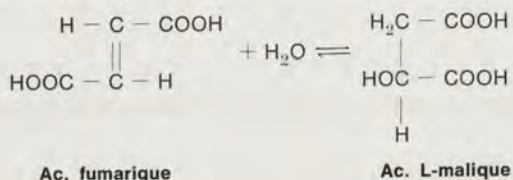


L'enzyme a un poids moléculaire de 200 000. Il contient quatre atomes de fer et une mole de flavine par mole de protéine.

La réaction catalysée est spécifique pour la forme *trans* ; l'acide maléique, l'isomère *cis*, n'est pas produit par l'enzyme. L'acide malonique est un inhibiteur spécifique, en conséquence il interrompt le déroulement du cycle à ce point avec accumulation de succinate. L'oxaloacétate, le dernier intermédiaire du cycle, inhibe également l'enzyme par compétition, ce qui permet d'entrevoir un moyen de contrôle de la vitesse du cycle par un mécanisme de *feedback*.

7. L-malate

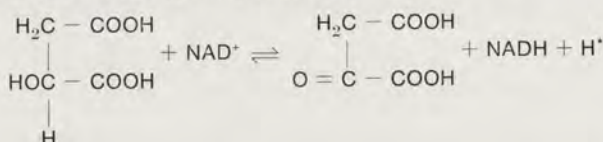
L'hydratation du fumarate avec production de malate est catalysée par la fumarase.



La constante d'équilibre de la réaction dans le sens gauche-droite est voisine de 4. Il s'agit donc d'une réaction réversible ; toutefois le pH optimum est différent selon le sens envisagé. Les ions inorganiques et plus particulièrement le phosphate, influencent la vitesse de la réaction.

8. Oxaloacétate

La déshydrogénase de l'acide L-malique catalyse en présence de NAD l'oxydation du L-malate en oxaloacétate.



Le potentiel d'oxydo-réduction du couple malate-oxaloacétate est de -0.1 V (pH 7.0) alors que celui du système $\text{NAD}_{\text{red}} - \text{NAD}_{\text{ox}}$ est voisin

de -0.32 V. L'oxaloacétate représente donc un accepteur d'électrons vis-à-vis du NAD ou vis-à-vis d'autres substrats liés à NAD. La position de l'équilibre en faveur de la réaction dans le sens droite-gauche assure le contrôle de la concentration intramitochondriale en oxaloacétate.

La formation d'oxaloacétate complète le cycle et permet ainsi la condensation avec une nouvelle molécule d'acétyl-CoA et la répétition de tout le processus.

La mitochondrie contient des enzymes dont les substrats sont des membres du cycle de Krebs, fournissant ainsi un moyen de contrôle adéquat de la vitesse du cycle. Il s'agit de la glutamate-oxaloacétate aminotransférase, de la glutamate-pyruvate aminotransférase, de la déshydrogénase de l'acide L-glutamique et des carboxylases pyruvique et phosphopyruvique.

Le schéma de la figure 12-4 montre l'organisation du cycle de Krebs et les points de convergence essentiels avec d'autres voies métaboliques qui sont étudiées dans d'autres chapitres de ce livre.

B. SORT DES DEUX CARBONES DE L'ACÉTATE AU COURS D'UN TOUR DU CYCLE

Si on marque à l'aide d'isotopes du carbone, le méthyle et le carboxyle de l'acétate, le sort des deux carbones de cette molécule peut être suivi au cours de son passage dans les intermédiaires du cycle de Krebs. La figure 12-5 résume les résultats obtenus. Par suite de la fixation asymétrique du citrate sur l'aconitase, il n'y a pas de distribution symétrique de ces carbones dans l' α -cétoglutarate. Cette dernière n'apparaît qu'à partir de l'étape conduisant à la formation de succinate.

Il est aussi apparent que les deux moles de CO_2 produites par mole d'acétate entrant dans le cycle, ne proviennent pas, au premier tour, de cet acétate. Ce n'est qu'au cours de cycles ultérieurs, avec la réutilisation de l'oxaloacétate formé qu'apparaîtront sous forme de CO_2 les carbones de l'acétate.

II. LE CYCLE OXYDATIF DES ACIDES GRAS

L'hydrolyse des graisses neutres en présence des lipases aboutit à la production de glycérol et d'acides gras. Le glycérol des graisses et des phosphatides est activé en présence d'ATP et de kinase du glycérol en α -glycérophosphate et est ainsi introduit dans la séquence de réactions de la glycolyse.

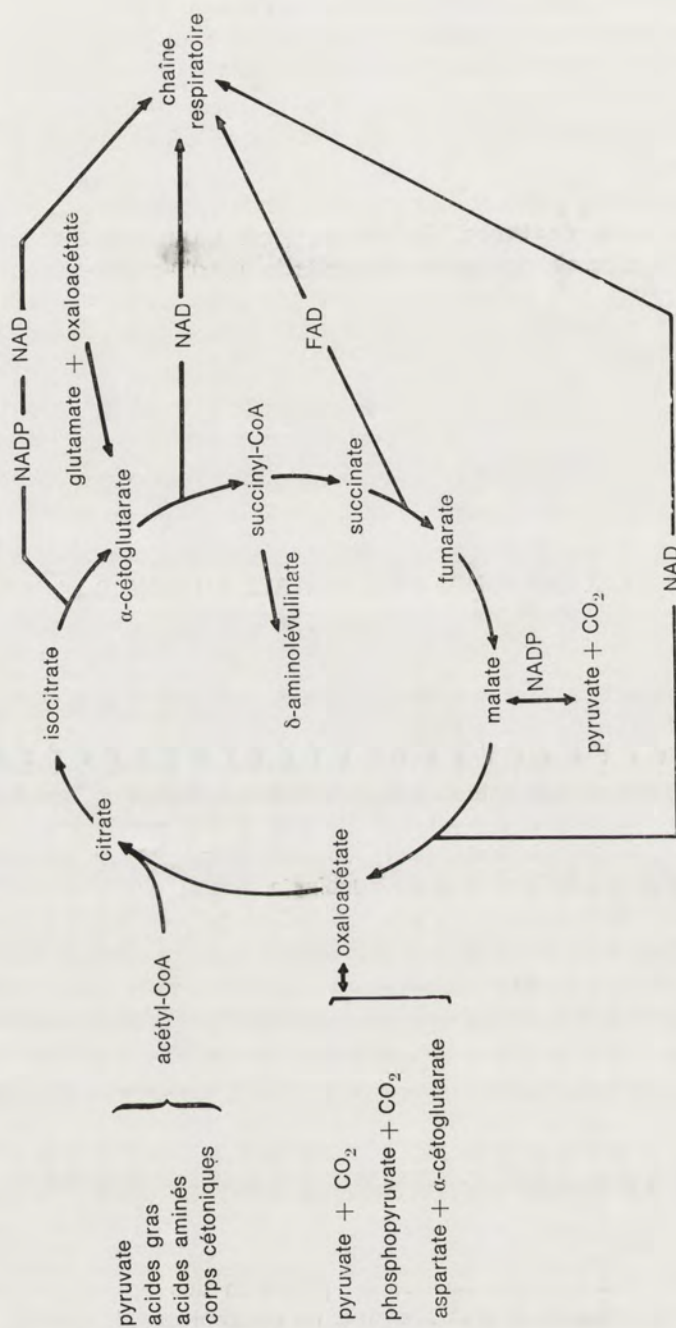


FIG. 12-4. Le cycle de Krebs et les points principaux de convergence avec d'autres voies métaboliques.

Les acides gras pénètrent dans la mitochondrie qui possède l'arsenal enzymatique indispensable à l'oxydation complète de ces substrats en CO_2 et H_2O . Comme dans le cas du cycle de Krebs, l'oxydation des acides

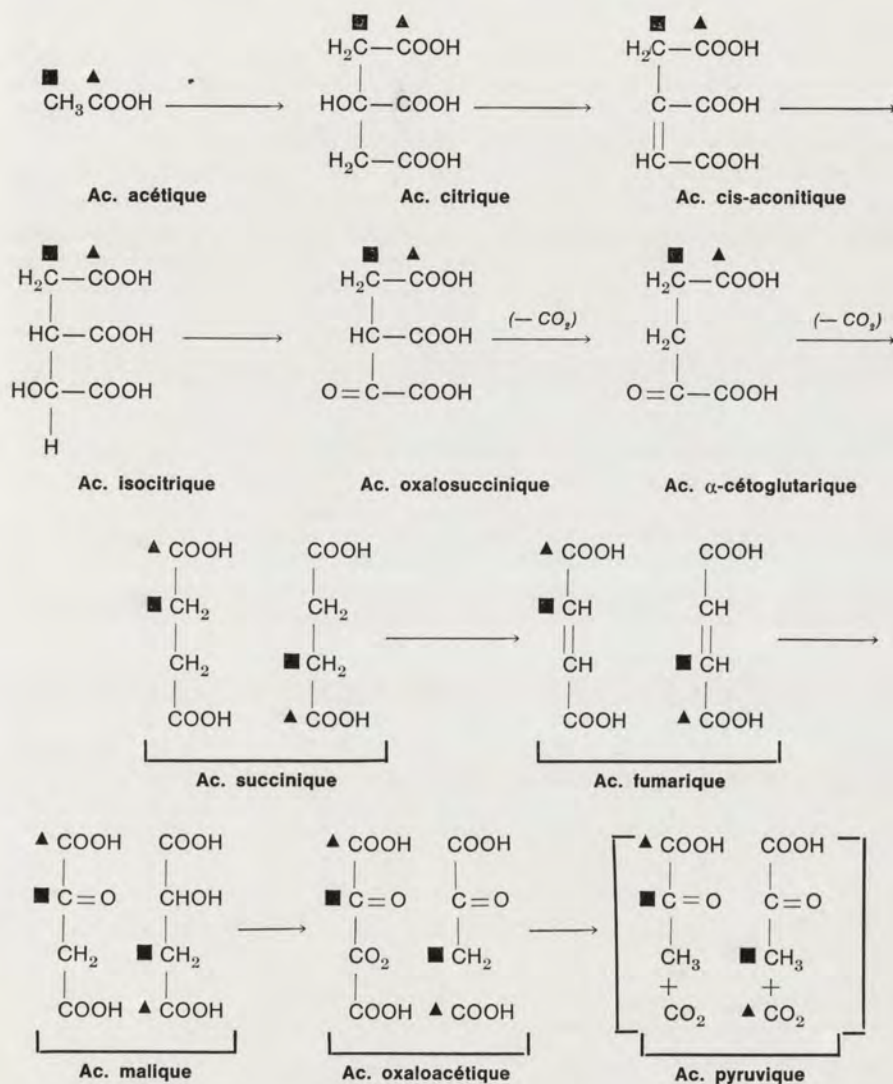


FIG. 12-5. Sort des deux carbones de l'acétate au cours d'un tour du cycle.

gras par la mitochondrie est très autonome puisqu'il suffit d'ajouter au milieu de suspension, du phosphate inorganique, de l'ADP, Mg^{++} et un acide dicarboxylique pour l'obtenir.

La dégradation s'effectue alors par enlèvement successif d'unités à deux carbones à partir de l'extrémité portant la fonction carboxyle. Ce mécanisme, proposé par Knoop en 1904 et appelé la β -oxydation, a reçu sa pleine confirmation à la suite des travaux de Lynen, Green, Ochoa, Lardy et Lehninger et constitue actuellement une des voies métaboliques les mieux établies.

La caractéristique principale de cette séquence de réactions est qu'à chaque tour du cycle, la chaîne de l'acide gras est raccourcie d'une unité de deux carbones libérée sous forme d'acétyl-CoA, c'est pourquoi on parle parfois de spirale de l'oxydation des acides gras.

Comme le montre la figure 12-6 on doit considérer cinq étapes principales dont la répétition aboutit à la dégradation complète en acétyl-CoA d'un acide gras possédant un nombre pair d'atomes de carbone. Dans le cas où on a affaire à un acide gras formé d'un nombre impair d'atomes de carbone, le produit obtenu au dernier tour du cycle est le propionyl-CoA.

La figure 12-6 indique également que les dérivés acylés sont liés au groupe thiol du CoA.

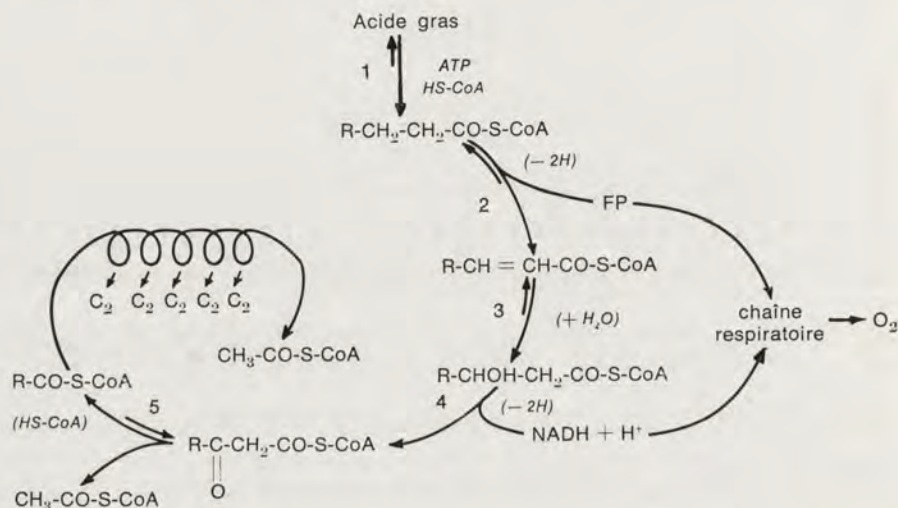


FIG. 12-6. La spirale de l'oxydation des acides gras.

A. LES ÉTAPES DU CYCLE

1. Activation de l'acide gras

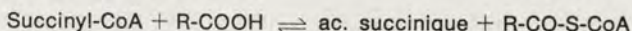
Le soufre du CoA joue le même rôle d'introducteur des acides gras dans le métabolisme que le phosphate inorganique vis-à-vis des molécules d'oses. L'activation de l'acide gras peut se faire selon deux schémas. Le

premier nécessite la présence d'ATP et de Mg^{++} et après formation d'un intermédiaire acyl-AMP (voir p. 209) l'acyl-CoA est obtenu :



Les enzymes catalysant cette réaction portent le nom général de synthétase de l'acyl-CoA. On en connaît deux qui sont spécifiques pour les acides gras à chaîne courte et longue.

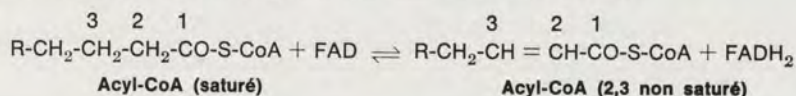
Un deuxième mécanisme implique la participation de transférases catalysant la réaction générale :



Cette réaction est surtout importante chez les microorganismes.

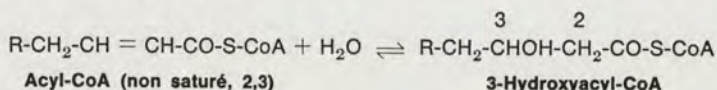
2. Première déshydrogénation

Cette étape est catalysée par des flavoprotéines portant le nom général de déshydrogénases de l'acyl-CoA. Ces enzymes sont spécifiques pour les acides gras à chaîne courte, moyenne ou longue et contiennent du FAD. Ces enzymes sont également associés à Cu ou Fe.



3. Hydratation

L'étape suivante est l'hydratation de l'acyl-CoA non saturé (2,3) par l'hydratase de énoyl-CoA :

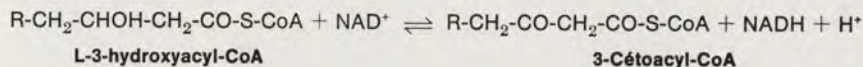


L'acide 3-hydroxy formé a la configuration L (+) et l'enzyme agit sur les esters non saturés en 2,3 ou en 3,4 de forme *cis* ou *trans*.

C'est un enzyme sulfhydrylé qui ne contient pas de groupe prosthétique et ne nécessite pas de cofacteur.

4. Deuxième déshydrogénation

La deuxième déshydrogénation est catalysée par un enzyme qui est spécifique des formes L- des stéréoisomères des esters 3-hydroxyacyl-CoA et nécessite le NAD. Le NADred formé est alors disponible pour son entrée dans la chaîne respiratoire

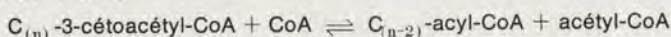


On trouve dans la mitochondrie une épimérase qui transforme réversiblement la forme D- de l'ester 3-hydroxybutyryl-CoA en la forme L-.

Il est intéressant de remarquer que l'oxydation des acides gras implique la forme L- du 3-hydroxyacyl-CoA comme intermédiaire alors que la synthèse des acides gras implique la forme D-.

5. Clivage thiolitique

Le 3-cétoacyl-CoA formé est l'objet d'un clivage thiolitique qui a pour résultat de libérer de l'acétyl-CoA et un acyl-CoA possédant deux carbones en moins.

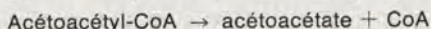
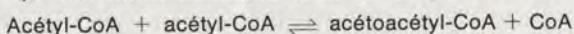


L'acétyl-CoA formé peut suivre diverses voies métaboliques dont la plus importante est le cycle de Krebs. Quant à l'acyl-CoA, il rentre dans le cycle qui vient d'être décrit où il subira le raccourcissement d'une nouvelle unité acétyle. Les recyclages successifs d'une chaîne acyl-CoA graduellement raccourcie de deux carbones constituent ce qu'on appelle la spirale de l'oxydation des acides gras.

Dans la mitochondrie du foie, l'oxydation des acides gras peut se faire selon deux schémas.

En l'absence d'intermédiaires du cycle de Krebs, on doit ajouter de l'ATP pour amorcer la spirale, vraisemblablement au niveau de la première réaction d'activation. Dans ces conditions, on obtient exclusivement de l'acétoacétate puisqu'il n'y a pas d'acide dicarboxylique en C_4 permettant l'entrée de l'acétyl-CoA dans le cycle de Krebs.

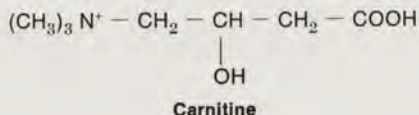
Deux molécules d'acétyl-CoA se condensent pour donner de l'acétoacétyl-CoA qui est alors désacylé (voir p. 314) :



Si un intermédiaire du cycle de Krebs est présent, il y a moins d'acétoacétate formé : l'acétyl-CoA se condense avec l'oxaloacétate et est oxydé complètement par la voie du cycle de Krebs. C'est le mécanisme rencontré le plus couramment dans la mitochondrie du rein, du muscle et des tissus autres que le foie.

Notons aussi que c'est la mitochondrie du cerveau qui est la moins active en ce qui concerne l'oxydation des acides gras.

La carnitine est un facteur de croissance qui a été récemment impliqué dans le métabolisme des acides gras. L'ester de carnitine d'un acide gras est oxydé plus rapidement par la mitochondrie que l'acide gras libre ce qui suggère que l'ester de carnitine pourrait être la forme sous laquelle l'acide gras est transporté au sein de la mitochondrie.

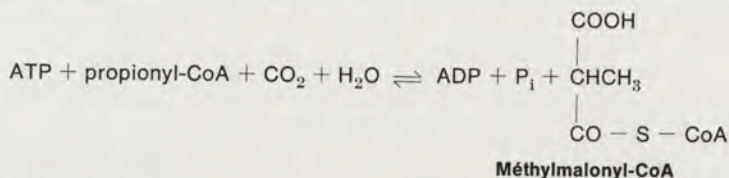


B. SORT DU PROPIONYL-CoA

Si l'acide gras entrant dans la spirale de l'oxydation des acides gras possède un nombre impair de carbones, les produits terminaux obtenus

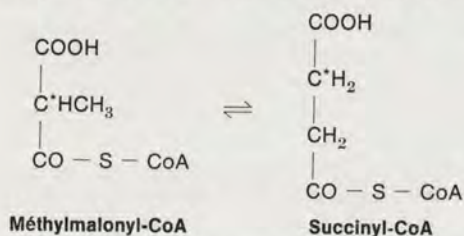
sont l'acétyl-CoA et le propionyl-CoA. Le pool du propionyl-CoA peut également être alimenté par d'autres voies métaboliques et notamment par celle de l'oxydation des acides aminés aliphatiques à chaîne latérale. L'acide propionique formé est alors activé au cours d'une réaction impliquant soit une synthétase soit une transférase (p. 179).

La voie métabolique suivie est la transformation en méthylmalonyl-CoA :



Cette réaction est catalysée par la carboxylase du propionyl-CoA (E. N. 6.4.1.3). Elle implique la formation d'un complexe enzyme-CO₂-biotine.

La biotine est un coenzyme fixé par une liaison covalente aux groupes ε-aminés (liaison amide) des résidus lysine de l'apoenzyme. L'étape ultérieure est la transformation du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA.



L'enzyme de cette réaction, la mutase du méthylmalonyl-CoA (E.N. 5.4.99.2), a pour coenzyme la cyanocobalamine (vit. B₁₂). Il catalyse le transfert du groupe thioester, —CO—S—CoA, de telle sorte que le carbone occupant la position 2 dans le méthylmalonyl-CoA se trouve en position 3 dans le succinyl-CoA. Ce réarrangement intramoléculaire a été mis en évidence par l'utilisation de 2-C¹⁴-méthylmalonyl-CoA et est précédé d'une isomérisation portant sur le méthylmalonyl-CoA. La configuration des deux isomères obtenus n'est pas connue. On sait toutefois que la transformation en succinyl-CoA ne porte que sur un des isomères. Le mécanisme par lequel la cyanocobalamine transfère le groupe thioester n'est pas élucidé. Il est intéressant de remarquer qu'une isomérisation analogue du méthylaspartate en glutamate fait également intervenir la vitamine B₁₂.

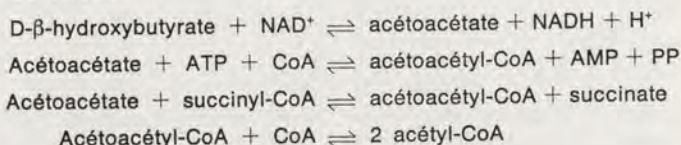
Le résultat de la séquence des réactions qui vient d'être envisagée est donc la formation du succinyl-CoA, un intermédiaire du cycle des acides tricarboxyliques.

C. ω-OXYDATION

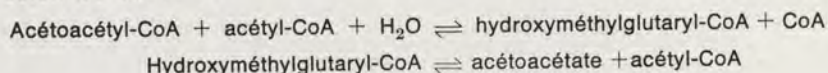
Dans certains cas, le groupe méthyle terminal d'un acide gras peut être oxydé en groupe carboxyle. La réaction paraît se dérouler en plusieurs étapes dont les principales seraient la formation d'intermédiaires ω-hydroxy- et ω-carbonyl-.

D. FORMATION ET OXYDATION DES CORPS CÉTONIQUES

La mitochondrie isolée à partir des tissus autres que le foie (rein et cœur par exemple) oxyde le D- β -hydroxybutyrate et l'acétoacétate en CO_2 et H_2O au cours des réactions suivantes faisant intervenir des intermédiaires du cycle de Krebs :



Dans le foie, au contraire, le D- β -hydroxybutyrate est oxydé en acétoacétate selon la première réaction ci-dessus, et l'acétoacétate s'accumule parce que la mitochondrie hépatique n'est pas pourvue des systèmes enzymatiques responsables de l'activation en acétoacétyl-CoA. D'autre part, l'oxydation des acides gras par la mitochondrie hépatique s'accompagne également d'une accumulation d'acétoacétate (voir plus haut p. 307). Il est vraisemblable que l'acétoacétyl-CoA formé est désacylé rapidement, échappant ainsi à la possibilité du clivage thiolitique. On sait que la désacylation ne se fait pas par hydrolyse directe mais implique au contraire un mécanisme cyclique faisant intervenir l'acétyl-CoA et l'hydroxyméthylglutaryl-CoA selon ce schéma :



L'acétyl-CoA régénéré réagit alors avec d'autres molécules d'acétoacétyl-CoA.

III. LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

La mitochondrie intacte possède un système plurienzymatique qui accepte les électrons résultant des déshydrogénations accomplies au cours du cycle de Krebs et du cycle de l'oxydation des acides gras dont les coenzymes sont le NAD, le NADP ou une flavoprotéine. Le système transporteur d'électrons est disposé de telle sorte qu'il forme une chaîne dont le potentiel d'oxydo-réduction va en augmentant. Les électrons se déplacent donc d'un potentiel d'oxydo-réduction négatif (substrat) vers un potentiel d'oxydo-réduction positif (O_2) par l'intermédiaire de trois catégories principales de substances.

- 1) les déshydrogénases nécessitant la présence des nucléotides de l'adénine
- 2) les flavoprotéines
- 3) les cytochromes

L'importance de ce système réside en ce qu'il comporte des mécanismes permettant de récupérer l'énergie libérée au cours des transferts d'électrons

et de l'accumuler sous forme de composés phosphorylés à potentiel énergétique élevé (ATP principalement), au cours de ce que nous sommes convenus d'appeler les phosphorylations de la chaîne respiratoire.

C'est grâce aux travaux de Chance et de ses collaborateurs que nous possédons une description détaillée de la composition et de l'organisation de la chaîne respiratoire. Ces recherches ont été précisées dans d'autres laboratoires et notamment dans ceux de Green, Okunuki, Slater, Singer, Lehninger, Klingenberg, etc.

Le spectre des différents éléments de la chaîne respiratoire étant connu, tant pour les formes oxydées que pour les formes réduites (Fig. 12-9 à 12-12 et Tableau 12-3), Chance a mis au point une technique élégante permettant de distinguer les pics d'absorption des composants de cette chaîne dans une suspension trouble de mitochondries. Le principe consiste à enregistrer à différentes longueurs d'onde les variations de

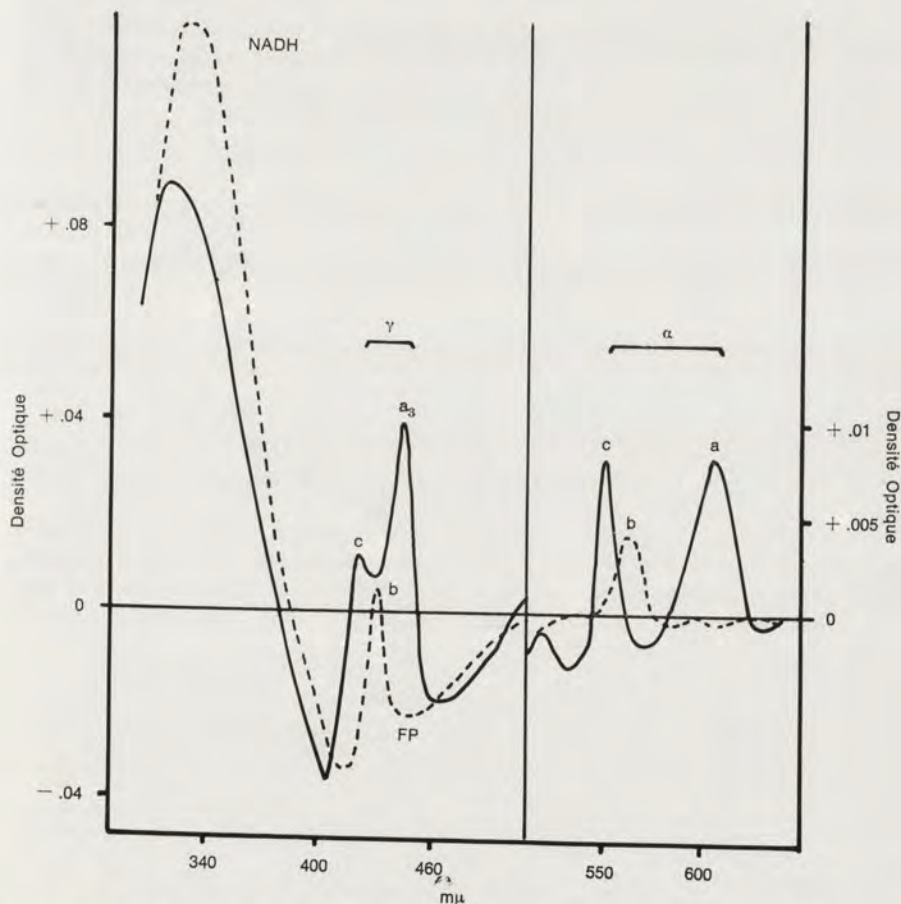


FIG. 12-7. Les enzymes de la chaîne respiratoire détectables par spectrophotométrie. Spectre différentiel obtenu par réduction des pigments oxydés lorsqu'on ajoute un substrat en conditions anaérobies (trait plein) ou en présence d'antimycine A (trait interrompu) (d'après Chance et Williams, 1956).

densités optiques qui apparaissent lorsque la suspension passe d'un état aérobie à un état anaérobie.

Le spectre obtenu, appelé spectre différentiel, est représenté dans la figure 12-7. Les courbes montrent la variation de densité optique d'une suspension de mitochondries de foie de porc lorsque les pigments oxydés sont réduits par suite de l'addition de substrat en conditions anaérobies (trait plein) ou après addition d'antimycine A (courbe en pointillé). Cette dernière substance inhibe la chaîne respiratoire entre le cytochrome b et le cytochrome c_1 (Fig. 12-8).

Les tracés montrent les caractéristiques spectrales des nucléotides de l'adénine, des flavoprotéines et des cytochromes a, b et c. L'utilisation de cyanure ou d'oxyde de carbone a également permis d'identifier dans ce spectre complexe, les variations correspondant aux cytochromes a et a_3 .

Si la chaîne respiratoire est réduite enzymatiquement, l'adjonction d'un agent réducteur (par exemple : $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$: hydrosulfite de Na) ne modifie pas le spectre ce qui signifie que tous les éléments de la chaîne détectables dans le spectre sont normalement réduits par les substrats de la respiration et qu'il n'y a pas, dans la mitochondrie, de transporteur d'électrons qui ne soit en rapport direct avec les autres éléments de la chaîne.

Tableau 12-1

CONCENTRATION DES ÉLÉMENTS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE DANS LA MITOCHONDRIE DU FOIE DE RAT

(d'après Chance et Hess)

	NAD	FP	cyto b	cyto c + c_1	cyto a	cyto a_3
Concentration $\mu\text{M}/\text{mg}$						
Protéine	3.8	0.72	0.18	0.34	0.20	0.22
Concentration relative (cyto a = 1)	19	3.6	0.9	1.7	1.0	1.1

A partir des données de la spectroscopie, on peut également calculer non seulement la concentration de chaque élément de la chaîne dans la mitochondrie intacte (Tableau 12-1) mais aussi la proportion relative des différents éléments se trouvant à l'état réduit dans une situation déterminée (Tableau 12-2).

Tableau 12-2

PROPORTION RELATIVE DES ÉLÉMENTS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE SE TROUVANT À L'ÉTAT RÉDUIT EN CONDITIONS AÉROBIES D'ÉQUILIBRE DYNAMIQUE

(d'après Chance et Williams)

	NAD + NADP	FP	cyto b	cyto c	cyto a
Pourcentage	53	20	16	6	< 4

Ces informations, jointes à celles obtenues lorsqu'on inhibe la respiration par différentes substances (cyanure, amytal, etc.), lorsqu'on

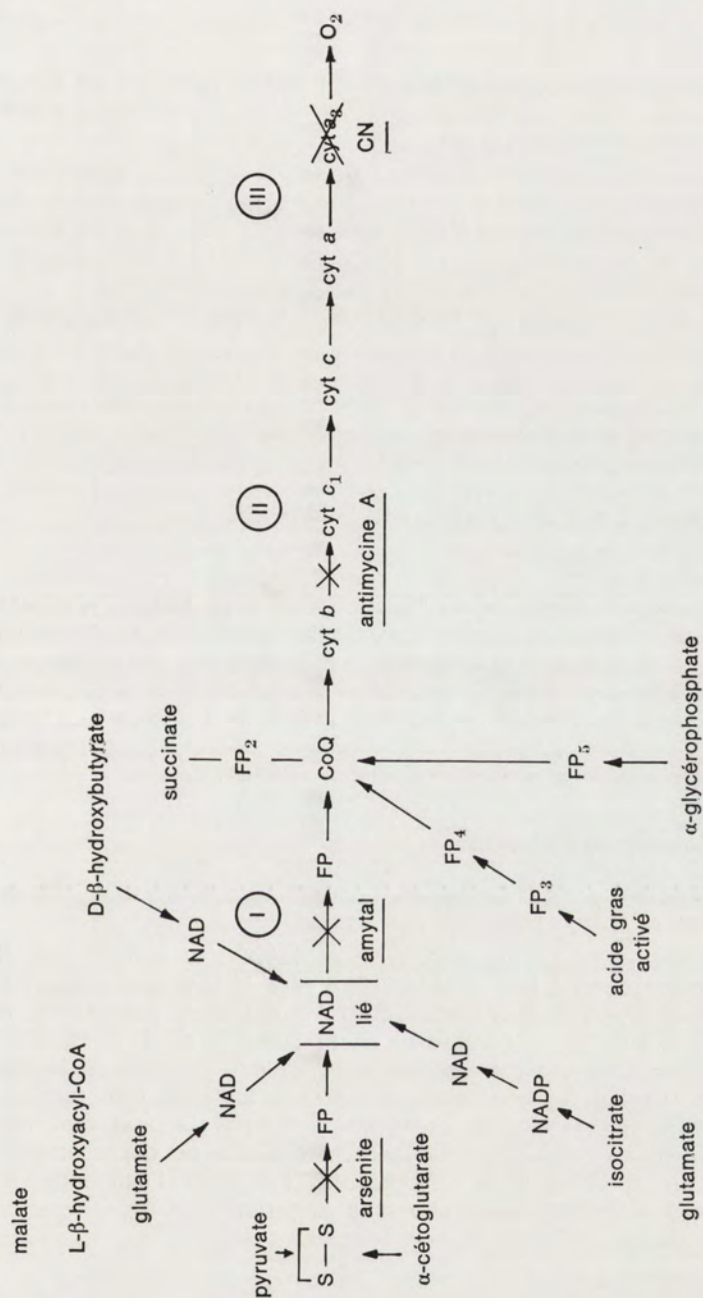
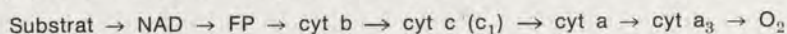


FIG. 12-8. Séquence fonctionnelle dans la chaîne respiratoire. Les chiffres romains indiquent les niveaux de couplage avec les phosphorylations. Les croix situent le lieu d'action des inhibiteurs (d'après Lehninger).

recherche la séquence d'apparition de l'état oxydé à partir d'une chaîne complètement réduite ont permis de proposer la séquence fonctionnelle



A la lumière de ce schéma, la question qui se pose est de savoir si le même type de chaîne est utilisé pour l'oxydation de différents substrats (succinate, acide gras, NADH, etc.).

Bien que cette question ne soit pas encore entièrement résolue, les résultats dont nous disposons actuellement semblent indiquer que la chaîne des cytochromes est commune à tous les substrats alors que les éléments responsables de l'introduction des électrons dans cette chaîne à partir de différents substrats varieraient selon le substrat considéré.

On peut donc résumer par le schéma de la figure 12-8 l'essentiel de nos connaissances concernant la séquence fonctionnelle. Dans ce schéma nous indiquons également le lieu d'action des inhibiteurs les plus communément utilisés dans l'étude de la respiration ainsi que les niveaux du couplage avec les réactions de phosphorylation.

A. LES ÉLÉMENTS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

Les éléments de la chaîne respiratoire constituent non seulement le système catalysant la synthèse de l'eau à partir d'un substrat réduit et de l'oxygène moléculaire mais aussi les éléments structuraux de la mitochondrie puisqu'ils représentent environ 25 % des protéines de sa membrane. On doit donc s'attendre à ce qu'une connaissance détaillée de la structure et des propriétés de chaque élément de la chaîne accroisse la compréhension de la biologie moléculaire de la mitochondrie et plus généralement des relations existant entre ultrastructure et fonction.

1. Les nucléotides de l'adénine

Les principales propriétés de ces coenzymes sont discutées dans les chapitres 5 et 7.

Les mitochondries contiennent NAD et NADP ; la somme des deux coenzymes correspond à une concentration 10 à 40 fois supérieure à celle du cytochrome a. La concentration en NAD est assez constante, alors que la concentration de NADP varie selon l'origine de la mitochondrie. Une fraction du NAD est directement accessible à l'action de la déshydrogénase de l'acide D-β-hydroxybutyrique sans toutefois être réduite par d'autres déshydrogénases. Une autre fraction du NAD peut être réduite par le succinate au cours du renversement du sens de déplacement des électrons (voir p. 331). Ces observations indiquent l'existence d'une compartimentation du pool du NAD mitochondrial.

2. Les flavoprotéines

Depuis les travaux de Warburg, Straub, etc. montrant que le NADH peut être oxydé par le bleu de méthylène en présence d'une flavoprotéine (diaphorase, NADred : lipoamide oxydoréductase E.N. 1.6.4.3) largement

distribuée chez les animaux, on a postulé l'existence de flavoprotéines spécifiques formant un intermédiaire entre le NADH et la chaîne des cytochromes. De nombreux travaux ont été consacrés à cette importante question et bien qu'un accord unanime ne soit pas encore établi, on considère généralement que les différentes flavoprotéines qui ont été isolées de la mitochondrie peuvent se classer dans les catégories suivantes :

- a) une flavoprotéine est associée à la voie de l'oxydation du succinate ;
- b) une autre flavoprotéine, qui oxyde le NAD, est intimement couplée au cytochrome c.

Ces deux flavoprotéines sont rapidement réduites dès l'addition de substrat.

- c) une troisième catégorie de flavoprotéines comprend celles qui ne sont réduites ni par le NAD ni par les intermédiaires du cycle de Krebs. Il s'agit de deux ou plusieurs flavoprotéines qui interviendraient dans la première étape de déshydrogénation dans le cycle oxydatif des acides gras. Ces flavoprotéines ne réagissent pas directement avec les cytochromes.
- d) la réduction des cytochromes est catalysée par une autre flavoprotéine, la flavoprotéine transporteuse d'électrons, isolée par Beinert.

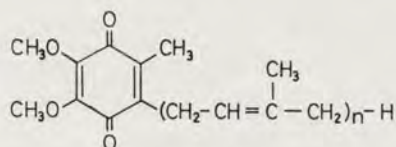
Tableau 12-3

LES CARACTÉRISTIQUES SPECTROPHOTOMÉTRIQUES DES PRINCIPAUX CYTOCHROMES
(d'après Chance et Williams)

cytochrome	absorbance maximum de la forme réduite (mμ)		
	α	β	γ
a ₃	600	—	445
a	605	517	414
c	550	521	416
c ₁	554	523	418
b	563	530	430
b ₅	557	527	423

3. L'ubiquinone ou coenzyme Q (Q pour quinone)

Dans la fraction lipidique de la mitochondrie du cœur de bœuf, Green et ses collaborateurs ont mis en évidence la présence d'une quinone insoluble dans l'eau. A la suite de travaux réalisés indépendamment dans différents laboratoires, la structure générale suivante a été attribuée à cette molécule



Ubiquinone

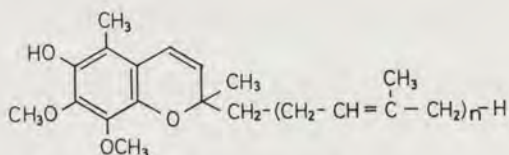
La chaîne latérale est formée d'un nombre variable, n, d'unités isoprénoides et les quinones extraites des mitochondries d'origines diverses varient quant

à la valeur de n . On trouve cinq dérivés naturels pour lesquels n prend les valeurs de 6 à 10. Le type de coenzyme Q rencontré chez les mammifères est le type Q_{10} , c'est-à-dire celui pour lequel $n = 10$. Chez le rat on trouve toutefois un dérivé Q_9 . Chez *Saccharomyces cerevisiae*, le coenzyme Q est de la forme Q_8 .

Le rôle du coenzyme Q dans la chaîne respiratoire est bien mis en évidence par les expériences au cours desquelles on a démontré qu'après extraction de la quinone par l'iso-octane, la mitochondrie est incapable de catalyser l'oxydation du succinate ou du NADH. L'addition de coenzyme Q restaure cette possibilité. Il apparaît ainsi que la réaction d'oxydation du succinate par le cytochrome c nécessite le coenzyme Q. Comme d'autre part, le cytochrome c est nécessaire pour l'oxydation de la quinone, cette dernière doit donc précéder le cytochrome c dans la séquence fonctionnelle et on en conclut que la réduction du cytochrome c par le succinate comprend une étape intermédiaire nécessitant le coenzyme Q.

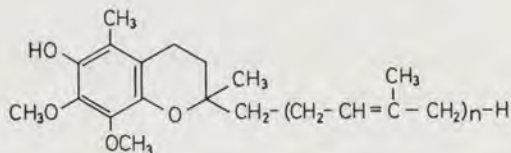
Une autre observation intéressante faite au cours de ces études montre qu'il y a une relation directe entre le type de métabolisme et la concentration en coenzyme Q. Si des levures croissant en conditions anaérobies, sont ensuite oxygénées, on observe une augmentation de la concentration en coenzyme Q pouvant atteindre 10 fois la valeur obtenue chez les témoins en anaérobiose. Ce résultat est évidemment en accord avec la fonction attribuée au coenzyme Q dans la chaîne respiratoire.

Avant la découverte du coenzyme Q, on attribuait aux vitamines E et K un rôle important dans la chaîne respiratoire. La similitude de structure de ces vitamines avec le coenzyme Q et plus particulièrement avec le chroménol du coenzyme est apparente quand on considère les formules rationnelles :



Ubichroménol

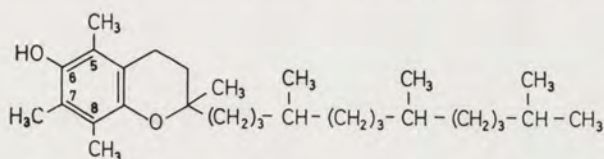
Signalons aussi que l'hydroquinone du coenzyme Q peut s'isomériser en la forme cyclique hydroxychroman ou ubichromanol



Ubichromanol

Le coenzyme Q oxydé présente un maximum d'absorption à 275 mμ. Ce maximum est déplacé à 290 mμ lorsqu'il est réduit.

La vitamine E a été isolée à partir d'huile de germes de blé en 1936 et a reçu le nom de tocophérol en rapport avec le fait que sa carence

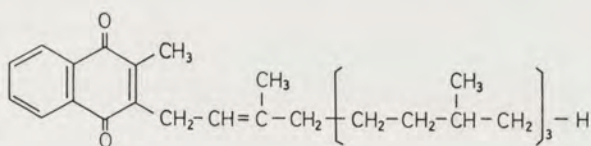


α -Tocophérol

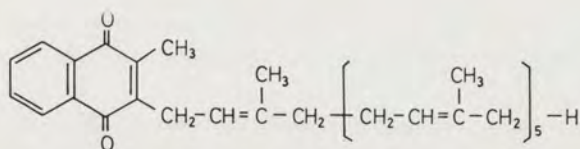
entraîne chez le rat la stérilité (τοκος, naissance ; φερειν, porter). On connaît actuellement six dérivés naturels substitués en positions 5, 7 et 8.

Tocophérol	substitution
α	5,7,8-triméthyltolcol
β	5,8-diméthyltolcol
γ	7,8-diméthyltolcol
δ	8-méthyltolcol
ϵ	5-méthyltolcol
ζ	7-méthyltolcol
η	5,7-diméthyltolcol

La vitamine K (Koagulazionvitamin) dont la carence entraîne chez le mammifère un état hémorragique, a été isolée et synthétisée dès 1939. La vitamine extraite de l'alfalfa est désignée par K_1 , celle du muscle de poisson par K_2 . Il y a de nombreux analogues de la vitamine K_2 qui diffèrent entre eux par la longueur de la chaîne latérale. Celle du muscle de poisson a 30 carbones ($K_2(30)$).



Vitamine K_1
(2-méthyl-3-phytyl-1,4-naphthoquinone)



Vitamine K_2 (30)
(2-méthyl-3-difarnésyl-1,4-naphthoquinone)

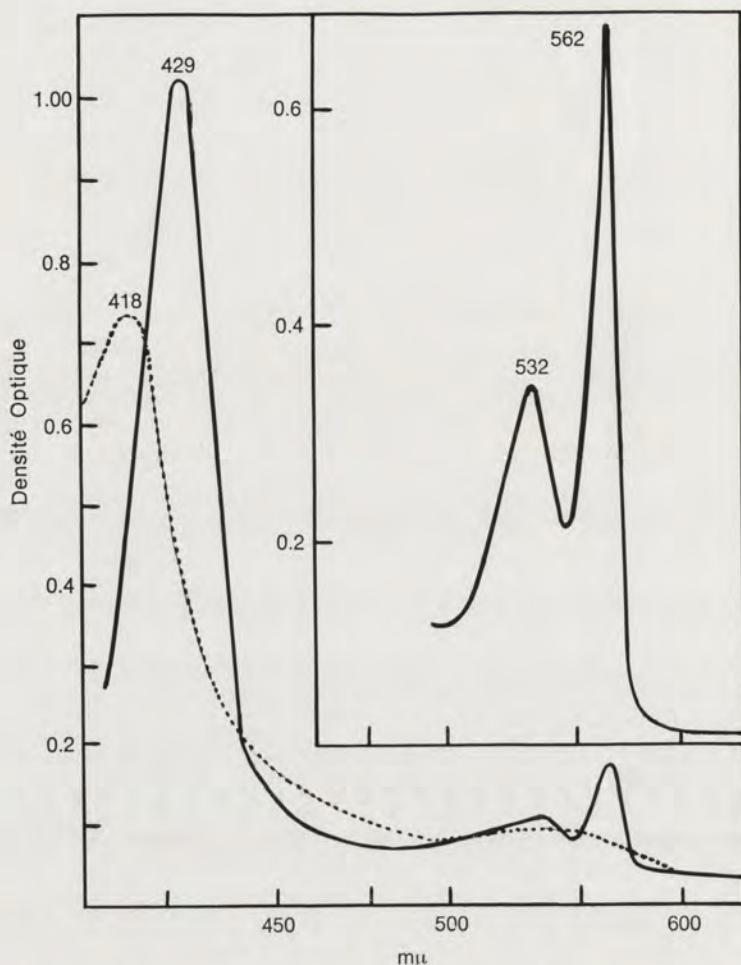


FIG. 12-9. Spectre d'absorption du cytochrome b. Trait plein : forme réduite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) ; trait interrompu : forme oxydée (d'après Bomstein et al.).

4. Les cytochromes

a) Cytochrome b

Le cytochrome b est fermement fixé à la mitochondrie. La protéine a pu toutefois être purifiée en 1956, ce qui a permis de définir ses propriétés. Le poids moléculaire est de 28 000 et les bandes α , β et γ du spectre de l'enzyme réduite sont situées à 562.5, 532.5 et 429 $\text{m}\mu$ (Fig. 12-9). L'hème peut être facilement détaché par l'acétone et a été identifié à la protoporphyrine ferrique IX (Fig. 12-10).

Le cytochrome b purifié a une tendance à se polymériser et les particules obtenues peuvent avoir un poids moléculaire de $4 \cdot 10^6$. Le potentiel d'oxydo-réduction dépend de l'état d'agrégation : il est de -0.340 V pour le monomère et voisin de 0.0 V pour la forme polymérisée.

Le caractère principal de ce cytochrome est d'être inactivé par l'anti-mycine A, l'uréthane, le BAL (British Anti Lewisite), la naphthoquinone et l'oxane de la N-hydroxyquinoline, substances qui bloquent donc le transfert d'électrons dans la mitochondrie intacte. On sait aussi que le cytochrome b est nécessaire dans les réactions conservatrices d'énergie situées entre les dinucléotides de l'adénine et le cytochrome c.

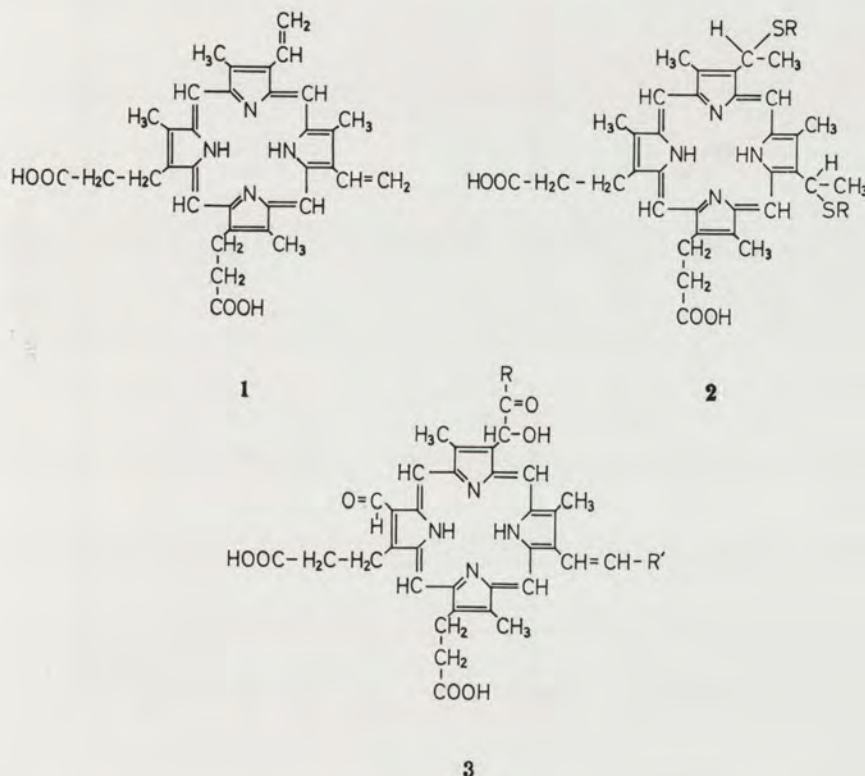


FIG. 12-10. Formules de structure des groupes prosthétiques (1) du cytochrome b (protoporphyrine IX) ; (2) du cytochrome c (mésoporphyrine substituée) ; (3) cytochrome a (cytodeutéroprophyrine).

b) Cytochrome c_1 (Fig. 12-11)

Ce cytochrome a été décrit pour la première fois en 1940, mais son identité en tant que cytochrome indépendant a fait l'objet de nombreuses controverses. Chance a pu l'identifier spectroscopiquement dans la mitochondrie intacte. On sait actuellement que ce cytochrome est fixé plus fermement à la mitochondrie que le cytochrome c. En effet, sa solubilisation nécessite la présence de désoxycholate ou de tout autre détergent alors que le cytochrome c est facilement extrait en solution saline.

Le poids moléculaire du cytochrome c_1 est voisin de 40 000. Il n'a pas d'inhibiteur connu. Il est réduit par les cytochromes b et c, l'acide ascorbique et les quinols⁽¹⁾. Sa forme réduite est oxydée par le cytochrome c.

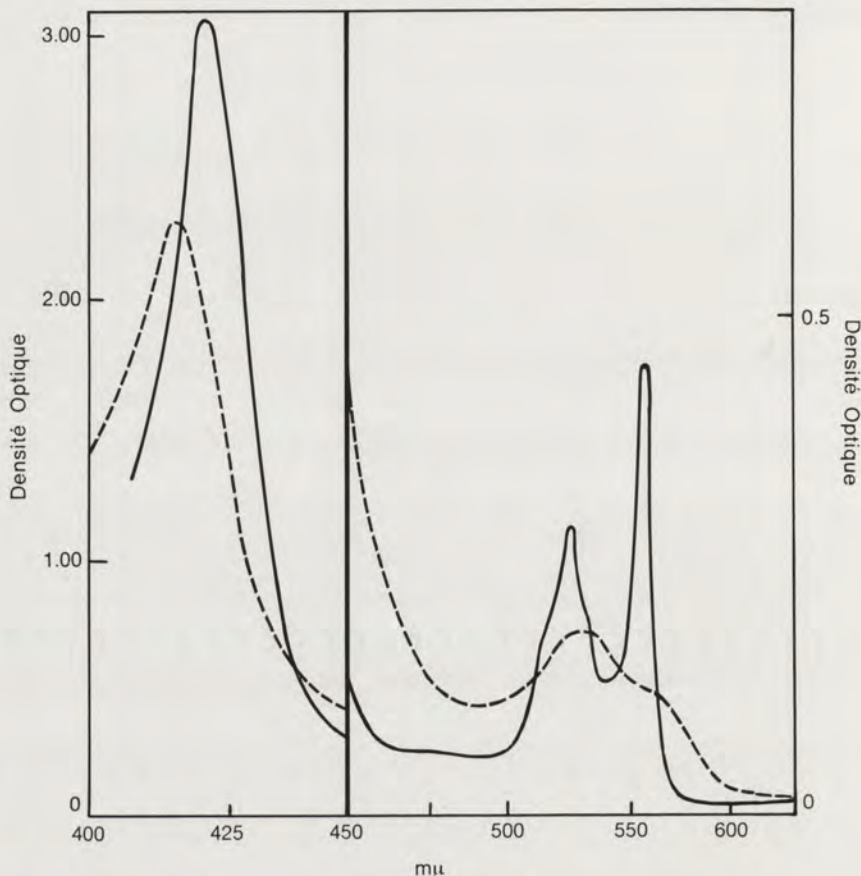


FIG. 12-11. Spectre d'absorption du cytochrome c_1 . Trait plein : forme réduite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), trait interrompu : forme oxydée (d'après Green et al., 1959 b).

c) Cytochrome c (Fig. 12-12)

Ce cytochrome diffère des autres membres de la série par le fait qu'il est aisément extrait de la mitochondrie sous forme soluble dans une solution saline neutre ou légèrement acide. Depuis la première purification réalisée par Keilin en 1930, les recherches se sont succédé activement et ont abouti à sa cristallisation en 1956.

(¹) A la frontière commune des composés cycloniques (type cyclohexane) et des composés aromatiques (type benzène) existe une classe de cétones-alcools cycliques non saturés désignés sous le nom générique de quinols.

Le poids moléculaire est de 12 000 et la molécule peut s'associer en di-, tri- ou tétramères. Ces polymères réagissent avec O_2 et CO mais pas avec la cytochrome oxydase. La forme liée du cytochrome c ne se combine pas à CN, contrairement à la forme soluble.

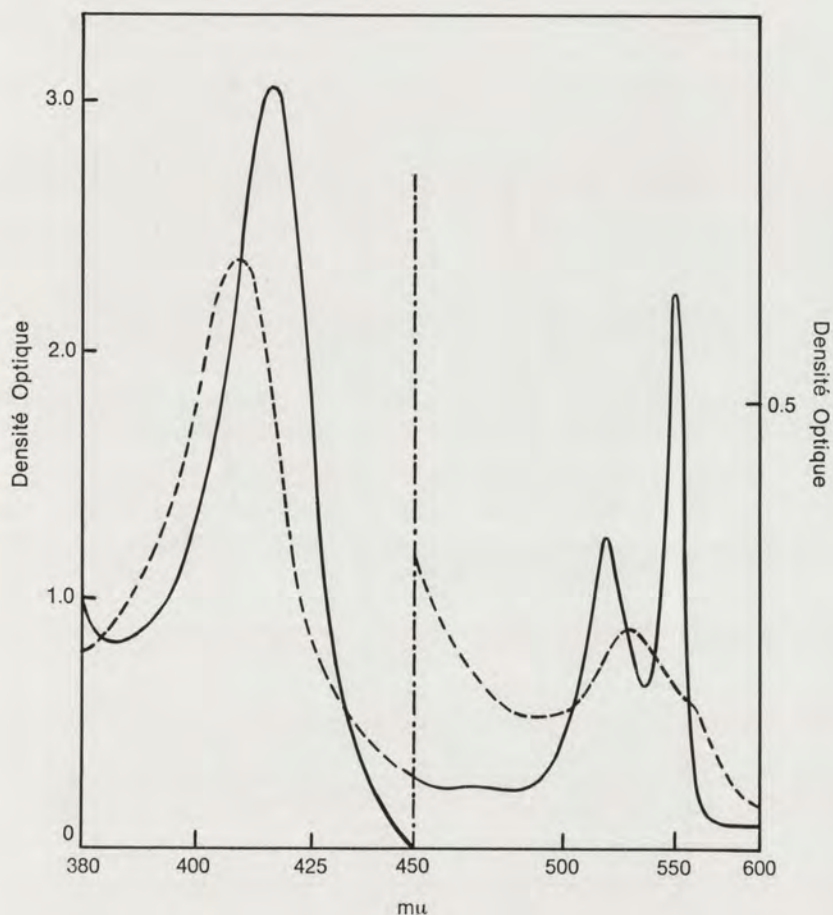


FIG. 12-12. Spectre d'absorption du cytochrome c. Trait plein : forme réduite ($Na_2S_2O_4$) ; trait interrompu : forme oxydée (d'après Green et Fleischer).

La spécificité vis-à-vis de son oxydase est très grande et seuls les cytochromes a et a_3 peuvent jouer le rôle d'accepteurs d'électrons. Par contre, le cytochrome c accepte les électrons de nombreux donneurs. Son potentiel d'oxydo-réduction est de + 0.24 V.

La structure tertiaire de la molécule fait l'objet de recherches très actives et les premiers résultats indiquent qu'il s'agit d'une molécule en forme de prisme dont la plus grande dimension ne dépasse pas 40 Å.

Le cytochrome c se combine facilement avec les lipides au niveau des groupes ϵ -aminés. Cette observation pourra éventuellement nous aider à mieux saisir la signification fonctionnelle de l'association lipide-protéine dans la mitochondrie et dans les membranes vivantes en général.

d) Cytochromes a et a_3

On considère actuellement que ces composants terminaux de la chaîne respiratoire réagissent sous forme réduite avec l'oxygène moléculaire.

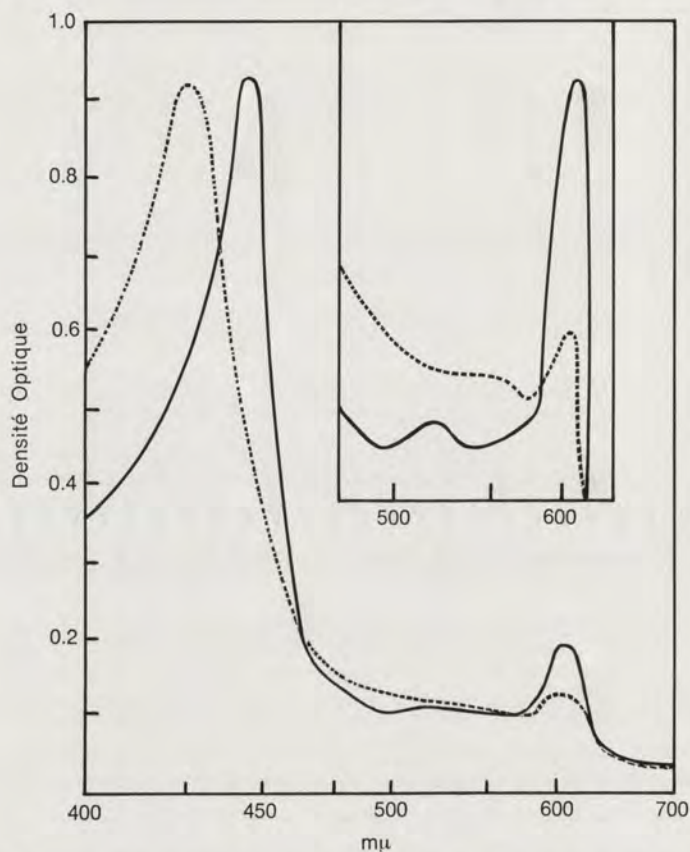


FIG. 12-13. Spectre d'absorption du cytochrome a. Trait plein : forme réduite ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) ; trait interrompu : forme oxydée (d'après Ambe et Venkataraman).

Chance a montré, au cours d'études spectrophotométriques très détaillées, qu'il s'agit de deux espèces moléculaires distinctes ayant des propriétés permettant de les différencier.

C'est ainsi que le cytochrome a possède une bande α importante à 605 $\text{m}\mu$ et une bande faible à 450 $\text{m}\mu$ (Fig. 12-13). Le cytochrome a ne réagit pas avec CN et CO, contrairement au cytochrome a_3 .

Ce dernier a un spectre qui se caractérise par une bande α étroite à 600 $\text{m}\mu$ et il est possible de démontrer qu'il existe une compétition entre

CO et O₂, ce qui permet de conclure qu'il s'agit de l'étape terminale du transfert des électrons.

Le cytochrome a peut être obtenu sous forme d'un monomère inactif de poids moléculaire voisin de 70 000 et contenant un hème. Ce monomère ne constitue pas l'enzyme tel qu'il existe à l'état natif et on pense que la cytochrome oxydase serait un hexamère comprenant quatre unités hémiques a et deux unités hémiques a₃ associées à six atomes de cuivre.

5. Autres constituants de la chaîne respiratoire

La catalase du foie se trouve dans la mitochondrie et dans cet organite, on a montré la présence en concentration élevée d'un donneur de H₂ de structure inconnue et qui réagit avec la catalase au cours des phosphorylations de la chaîne respiratoire. L'état de la catalase et sa fonction précise dans la chaîne respiratoire sont obscures.

On a également mis en évidence l'existence de cytochromes b₅ et b₂ dont la fonction exacte reste à préciser. On sait toutefois que dans le cas du cytochrome b₅, il ne se trouve pas associé à la chaîne principale du transfert des électrons dans la mitochondrie du foie, puisque sa réduction n'a pas lieu lorsque tous les autres éléments de la chaîne sont réduits en anaérobiose, par exemple. Ceci est vraisemblablement dû au fait que le cytochrome b₅ n'a pas accès au pool du NADred intramitochondrial.

Il existe enfin dans la mitochondrie un agent découplant les phosphorylations de la chaîne respiratoire. Il a reçu le nom de mitochondrome et les études spectroscopiques ont montré qu'il n'est pas réduit dans les conditions anaérobies. Sa participation dans les phénomènes de phosphorylation couplée à la chaîne respiratoire a été proposée et fait actuellement l'objet de nombreuses recherches.

Tableau 12-4
CONSTITUANTS PRINCIPAUX DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

Constituant	P. M.	Groupe prosthétique
NADH déshydrogénase	1 000 000	1 mole de FAD 16 atomes de Fe non hémique
succinodéshydrogénase	200 000	1 mole de FAD 2 ou 4 atomes de Fe non hémique
coenzyme Q		3 à 15 moles par mole de cytochrome b
cyto b (monomère)	28 000	1 mole de protohème
cyto c ₁ (monomère)	40 000	1 mole d'hème c
cyto c (monomère)	12 000	1 mole d'hème c
cyto a + a ₃ (hexamère)	≈ 400 000	4 moles d'hème a 2 moles d'hème a ₃ 1 à 2 atomes de Cu

Certaines caractéristiques des constituants principaux de la chaîne respiratoire sont mentionnées dans le tableau 12-4.

B. RECONSTITUTION DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

La séquence fonctionnelle de la chaîne respiratoire proposée dans la figure 12-8 a été établie principalement sur la base d'études cinétiques et spectroscopiques. Le but ultime de ces travaux est de reconstituer à partir des composés purifiés une chaîne respiratoire complète fonctionnant comme dans la mitochondrie intacte.

Cet objectif n'a pas encore été atteint, ce qui signifie qu'il existe encore des lacunes dans la compréhension que nous avons de la chaîne respiratoire.

Plusieurs laboratoires s'attachent actuellement à la résolution de ce problème et les résultats les plus prometteurs ont été obtenus dans le laboratoire de Green. A partir de mitochondries isolées, il a en effet été possible d'obtenir différents complexes : les particules transportant des électrons (ETP), formées de plusieurs constituants de la chaîne respiratoire.

Associées à une étude de l'ultrastructure des complexes par la microscopie électronique, ces recherches ouvrent une voie nouvelle dans l'étude des relations entre structure et fonction. Leur degré de développement ne permet toutefois pas de reconstituer avec certitude l'ensemble de la chaîne respiratoire, telle qu'elle existe dans la mitochondrie intacte.

C. LES PHOSPHORYLATIONS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

Lorsqu'un système d'oxydo-réduction tel que NADred-NADox réduit le système $H_2 - \frac{1}{2} O_2$ l'énergie libre libérée est donnée par

$$\Delta F = - n F \Delta E$$

où n est le nombre d'électrons transférés, F le nombre de Faraday et ΔE la différence entre les potentiels d'oxydo-réduction des deux systèmes. Dans le cas qui nous occupe

$$\begin{aligned}\Delta E &= 0.82 \text{ V} + 0.32 \text{ V} = 1.14 \text{ V} \\ \text{et } \Delta F &= - 2 \times 23\,000 \times 1.14 \\ &= 52 \text{ Kcal M}^{-1}\end{aligned}$$

Cette énergie n'est pas, comme le montre l'agencement de la chaîne respiratoire, libérée en une étape et les électrons ne passent pas directement du NADred à O_2 .

Le transfert des électrons est couplé à trois niveaux, représentés par des chiffres romains dans la figure 12-8, à des réactions qui permettent de récupérer, sous forme de composés phosphorylés une partie de l'énergie libérée. En d'autres termes le transfert des électrons le long de la chaîne respiratoire s'accompagne d'une libération d'énergie libre qui à certains endroits est récupérée dans des réactions de synthèse de l'ATP.

La respiration peut néanmoins s'effectuer sans phosphorylations et nous avons à notre disposition des moyens permettant de découpler ces deux mécanismes. La congélation des mitochondries, leur homogénéisation,

l'action de solutions hypo- ou hypertoniques ou encore la présence de certaines substances (Fig. 12-14) sont les méthodes les plus généralement employées pour dissocier la synthèse de l'ATP de la chaîne respiratoire.

Elles mettent en évidence un fait important : les phosphorylations, dont la mitochondrie est le siège, représentent une fonction très labile de cet organe qui nécessite pour s'accomplir l'intégrité structurale des membranes mitochondriales.

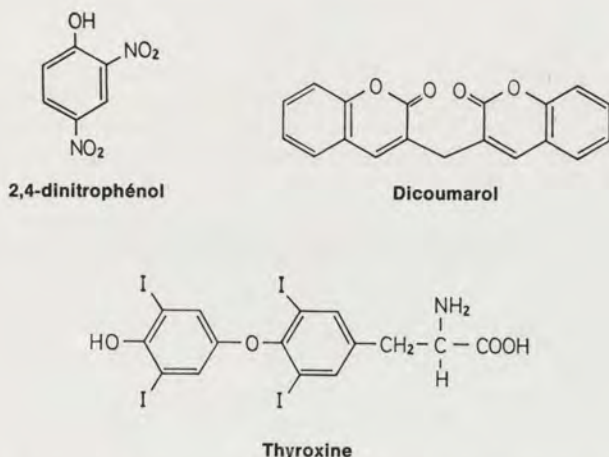
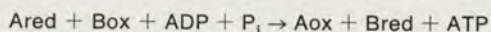


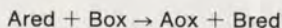
FIG. 12-14. Molécules découplant les phosphorylations de la chaîne respiratoire.

Du point de vue chimique, la réaction générale définissant une phosphorylation de la chaîne respiratoire peut se représenter par le bilan :

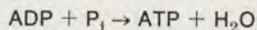


où A et B représentent deux constituants successifs de la chaîne respiratoire.

Il s'agit donc de coupler une réaction exergonique

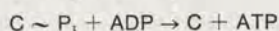
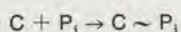


dont le ΔE° est voisin de -0.25 V (c'est-à-dire la valeur moyenne trouvée pour les constituants de la chaîne associés aux phosphorylations) à une réaction endergonique

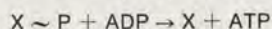
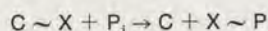


dont le ΔF° est voisin de $+8 \text{ Kcal M}^{-1}$. Comme le ΔF° correspondant à -0.25 V représente environ -11 Kcal M^{-1} , le couplage est donc possible et le problème est de trouver, comme dans tous les cas de réactions couplées, l'intermédiaire. Les modèles proposés peuvent se ramener à deux types principaux. Le type I est basé sur l'hypothèse d'une phosphorylation

du composant (C) de la chaîne respiratoire suivie d'un transfert du phosphate sur l'ADP.



Le type II implique l'existence d'un intermédiaire X encore inconnu :



Dans les deux schémas proposés, le découplage des phosphorylations peut s'expliquer par une hydrolyse soit de $C \sim P$ soit de $X \sim P$ sans synthèse subséquente d'ATP.

L'étude du mécanisme intime du couplage fait l'objet d'actives recherches. Le problème le plus important à résoudre est celui de savoir si les phosphorylations de la chaîne respiratoire impliquent l'existence d'un ou de plusieurs systèmes de couplages selon l'endroit de la chaîne respiratoire où elles ont lieu. Ensuite la nature du ou des intermédiaires ainsi que les systèmes enzymatiques impliqués restent à préciser. On a pu récemment fragmenter la mitochondrie en fractions qui sont incapables, lorsqu'elles sont prises séparément, de catalyser les phosphorylations. Par contre, en association, on restaure cette capacité. Parmi les fractions obtenues, on a pu mettre en évidence des systèmes enzymatiques hydrolysant l'ATP (ATPase) ou catalysant le transfert de phosphate de l'ATP à l'ADP et des facteurs de couplages dont la structure est inconnue mais qui restaurent la possibilité de synthétiser de l'ATP à partir de l'énergie fournie par la chaîne respiratoire. A l'aide de ces informations on a proposé différents mécanismes dont la réalité est pourtant loin d'être démontrée.

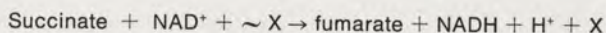
Signalons enfin que Mitchell a proposé une hypothèse hardie selon laquelle les phosphorylations de la chaîne respiratoire résulteraient essentiellement de l'existence de mécanismes de transport vectoriel à travers la membrane mitochondriale plutôt que de l'action d'un système multienzymatique scalaire sans polarité structurale.

D. RENVERSEMENT DES PHOSPHORYLATIONS DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

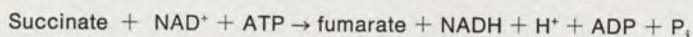
En présence de succinate, on observe une réduction accrue du NAD de la mitochondrie. C'est une observation surprenante puisque le potentiel d'oxydo-réduction standard du système NAD est voisin de -0.32 V alors que celui du système succinate est de 0.03 V. La réduction du NAD par le succinate est donc thermodynamiquement impossible sans fourniture d'énergie.

Les recherches poursuivies dans cette direction ont permis de montrer que l'énergie provient du renversement des phosphorylations de la chaîne respiratoire et que l'ATP ou les intermédiaires à contenu énergétique élevé

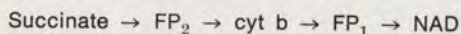
(normalement précurseurs de l'ATP) sont responsables de la situation observée :



où $\sim \text{X}$ est l'intermédiaire à contenu énergétique élevé,



Dans les deux cas, la voie suivie par les électrons serait représentée par la séquence



L'énergie nécessaire au renversement de la chaîne respiratoire peut également provenir des réactions II et III (Fig. 12-8).

E. CONVERSION DE L'ÉNERGIE D'OXYDO-RÉDUCTION EN ATP

1. Aspect thermodynamique du problème

a) L'oxydation d'une mole de pyruvate en CO_2 et H_2O s'accompagne de la libération de 280 Kcal

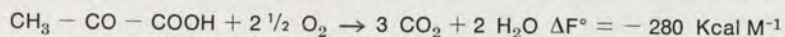
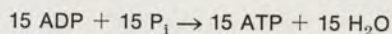


Tableau 12-5

FORMATION D'ATP AU COURS DE L'OXYDATION DU PYRUVATE PAR L'INTERMÉDIAIRE
DU CYCLE DE KREBS
(d'après Lehninger)

Étapes	Coenzymes	ATP formé
1. pyruvate $\rightarrow$ acétyl-CoA	lipoyl $\rightarrow$ NAD	3
2. isocitrate $\rightarrow$ α -cétooglutarate	NADP $\rightarrow$ NAD	3
3. α -cétooglutarate $\rightarrow$ succinyl-CoA	lipoyl $\rightarrow$ NAD	3
4. succinyl-CoA $\xrightarrow{\text{GDP}}$ succinate		1
5. succinate $\rightarrow$ fumarate	FAD	2
6. malate $\rightarrow$ oxaloacétate	NAD	3
		15

Si cette oxydation se fait par la voie du cycle de Krebs, elle est couplée, comme l'indiquent les résultats du tableau 12-5, à la synthèse de 15 moles d'ATP à partir d'ADP et de P_i



ce qui représente un ΔF° de + 120 Kcal. 14 moles d'ATP sont synthétisées au cours des phosphorylations de la chaîne respiratoire alors qu'une mole seulement est formée à l'étape de l' α -cétooglutarate par phosphorylation au

niveau du substrat. L'efficacité du système est de l'ordre de 43 % puisque des 280 Kcal libérées, 120 sont conservées sous forme de « liaisons riches ».

b) Dans le cas du glucose, l'oxydation d'une mole de ce substrat par la voie de la glycolyse et de celle du cycle de Krebs s'accompagne de la formation de 38 moles d'ATP (Tableau 12-6).

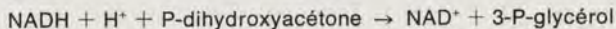
Tableau 12-6
FORMATION D'ATP AU COURS DE L'OXYDATION DU GLUCOSE PAR LA VOIE
DE LA GLYCOLYSE ET DE CELLE DU CYCLE DE KREBS
(d'après Lehninger)

Etape	ATP formé ou utilisé
1. $\text{ATP} + \text{glucose} \rightarrow \text{G-6-P} + \text{ADP}$	- 1
2. $\text{ATP} + \text{G-6-P} \rightarrow \text{F-1-6-PP} + \text{ADP}$	- 1
3. $2 \text{ phosphoglyceraldéhyde} + 2 \text{ ADP} + 2 \text{ P}_i \rightarrow 2 \text{ phosphoglycérate} + 2 \text{ ATP}$	+ 2
2 $\text{NAD} \rightarrow 2 \text{ NADred} \rightarrow 2 \text{ NAD}$	+ 6 ⁽¹⁾
4. $2 \text{ phosphopyruvate} + 2 \text{ ADP} \rightarrow 2 \text{ pyruvate} + 2 \text{ ATP}$	+ 2
5. cycle de Krebs :	
2 $\text{CH}_3\text{—CO—COOH} + 5 \text{ O}_2 + 30 \text{ ADP} + 30 \text{ P}_i \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 30 \text{ ATP} + 34 \text{ H}_2\text{O}$	+ 30
	38

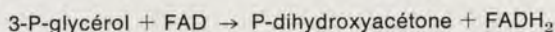
(¹) Cette étape extramitochondriale fournira quatre ou six ATP selon la voie métabolique suivie pour introduire les équivalents de réducteur dans la mitochondrie (voir p. 317).

Une mole d'ATP est utilisée à chacune des deux étapes kinasiques aboutissant à la phosphorylation du glucose et du fructose-phosphate. L'oxydation de deux trioses-phosphates en phosphoglycérate s'accompagne de la production de deux ATP et deux moles supplémentaires d'ATP sont régénérées au cours de la formation du pyruvate. Les deux moles de NADred produites par l'oxydation du 3-phosphoglyceraldéhyde ne peuvent pénétrer dans la mitochondrie, la membrane mitochondriale est en effet imperméable à cette molécule sauf dans certaines conditions particulières. Par exemple si la mitochondrie est isolée dans de mauvaises conditions, ou si elle est soumise à l'action d'une solution hypotonique, elle devient perméable au NADred mais est alors incapable de coupler la respiration à la génération d'ATP.

La cellule possède toutefois deux moyens lui permettant d'utiliser l'énergie du NADred d'origine cytoplasmique. On trouve en dehors de la mitochondrie un enzyme, la déshydrogénase du 3-phosphoglycérol (E.N. 1.1.1.8) qui catalyse la réduction de la phosphodihydroxyacétone en 3-phosphoglycérol

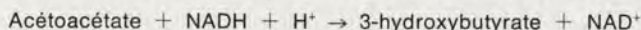


Ce dernier substrat pénètre dans la mitochondrie où il est oxydé par une flavoprotéine

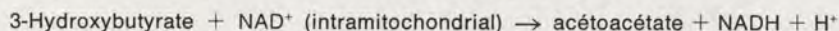


Une autre possibilité d'utilisation du NADred cytoplasmique est offerte par l'existence dans la membrane de la mitochondrie d'un enzyme, la déshy-

drogénase de l'acide 3-hydroxybutyrique (E.N.1.1.1.30) qui catalyse la réduction extramitochondriale de l'acétoacétate en 3-hydroxybutyrate.



Le 3-hydroxybutyrate pénètre dans la mitochondrie où le même enzyme catalyse la réduction du NAD intramitochondrial selon la réaction



L'acétoacétate formé retourne dans le cytoplasme et le cycle recommence.

Grâce à l'intervention de ces deux mécanismes, le NADred d'origine cytoplasmique fournit la même quantité d'ATP que s'il entraînait directement dans la chaîne respiratoire.

Comme le montre le tableau 12-6, le nombre de moles d'ATP formées est donc de 38 ce qui correspond à 304 Kcal M^{-1} soit à une efficacité de 45 % puisque la combustion complète du glucose dans une bombe calorimétrique fournit 686 Kcal M^{-1} .

c) L'oxydation des acides gras fournira une quantité d'ATP en relation directe avec le nombre de carbones de la chaîne. La formation d'une unité acétyl-CoA se fait selon deux étapes oxydatives principales. La première catalysée par des flavoprotéines s'effectue avec un rapport P:O voisin de 2 alors que la deuxième, liée au NAD, a un rapport P:O voisin de 3. Donc la formation d'une mole d'acétyl-CoA au cours d'un tour du cycle est responsable de la formation de cinq moles d'ATP dans la chaîne respiratoire.

D'autre part une mole d'acétyl-CoA produit, par la voie du cycle de Krebs, douze moles d'ATP. Le tableau 12-7 expose le bilan obtenu dans le cas de l'oxydation du palmitate.

Tableau 12-7

PRODUCTION D'ATP AU COURS DE L'OXYDATION D'UNE MOLE DE PALMITATE
(d'après Lehninger)

Etape	ATP formé ou utilisé
1. palmitate $\rightarrow$ palmityl-CoA	- 1
2. palmityl-CoA $\rightarrow$ 8 acétyl-CoA	
a. FADH_2 : 7×2	+ 14
b. NADred : 7×3	+ 21
3. cycle de Krebs	
8 acétyl-CoA $\rightarrow$ $16 \text{ CO}_2 + 8 \text{ H}_2\text{O} + 8 \text{ CoA} + 8 (12 \text{ ATP})$	+ 96
net	130

L'efficacité de cette séquence est voisine de 45 % puisque la variation d'énergie libre accompagnant l'oxydation complète d'une mole de palmitate est de 2 340 Kcal.

d) Efficacité de la chaîne respiratoire

Le tableau 8-2 donne la valeur du potentiel d'oxydo-réduction standard de différents systèmes d'importance biologique. Connaissant la relation existant entre travail électrique et différence de potentiel (Chap. 3), on peut

calculer la variation d'énergie libre qui accompagne le transfert de deux électrons du NADred à l'oxygène :

$$\Delta F^\circ = nF \Delta E'_0$$

$$\Delta E'_0 = -0.32 \text{ V} - (+0.82 \text{ V}) = -1.14 \text{ V}$$

$$\begin{aligned} \Delta F^\circ &= -2 \times 23\,062 \text{ (équivalent du Faraday en calories)} \times 1.14 \\ &= 52.0 \text{ Kcal par paire d'électrons} \end{aligned}$$

Puisque trois moles d'ATP sont produites au cours de ce processus, l'efficacité est donc de

$$\frac{24 \times 100}{52} = 46 \%$$

Un calcul analogue réalisé en considérant le succinate comme donneur d'électrons permet de montrer que la variation d'énergie libre ΔF° est voisine de -36.8 Kcal par paire d'électrons. Puisque deux moles d'ATP sont produites ($P : O = 2$) l'efficacité du système est donc de

$$\frac{16 \times 100}{36.8} = 43 \%$$

Comme l'indiquent les deux exemples précédents, il apparaît que plus de la moitié de l'énergie disponible n'est pas utilisée pour la synthèse d'ATP.

Ce résultat indique que le transfert d'électrons à l'oxygène moléculaire, couplé à la phosphorylation de l'ATP, est un processus essentiellement irréversible.

Il reste toutefois possible qu'une partie de l'énergie non utilisée au cours des phosphorylations le soit pour effectuer l'établissement des gradients ioniques ou les changements de configuration dont la mitochondrie est le siège (voir p. 341).

Tableau 12-8
VARIATION D'ÉNERGIE LIBRE ET NIVEAU DE PHOSPHORYLATION DANS
LA CHAÎNE RESPIRATOIRE
(d'après Lehninger)

	E'_0 (Volts)	$\Delta E'_0$ (Volts)	ΔF° Kcal	phospho- rylation
NAD	- 0.32	0.27	12.5	+
FP	- 0.05			
cyto <i>b</i>	+ 0.04	0.09	4.15	
cyto <i>c</i>	+ 0.26			
cyto <i>a</i>	+ 0.29	0.03	1.38	+
O ₂	+ 0.82			

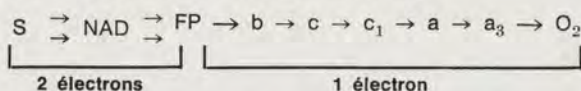
Le tableau 12-8 indique la variation d'énergie libre qui caractérise les étapes principales de la chaîne respiratoire. Elle est calculée à partir des potentiels d'oxydo-réduction standards des substrats de cette chaîne.

A partir des données on peut prédire à quels niveaux de la chaîne respiratoire, l'énergie libre libérée est couplée à la synthèse d'ATP. Les segments de la chaîne au niveau desquels la variation d'énergie libre est suffisante sont marqués d'une croix dans le tableau 12-8.

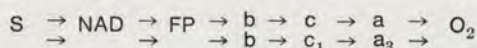
La localisation des niveaux de phosphorylations déterminée à partir de considérations thermodynamiques, a été confirmée par l'expérimentation directe.

2. Nombre d'électrons transférés

Dans le fonctionnement de la chaîne respiratoire, le passage de la flavoprotéine au cytochrome b constitue une transition entre un système à deux électrons et un système à un électron (le fer des cytochromes passe en effet d'un stade trivalent à un stade divalent).



Bien que classiquement la chaîne respiratoire soit représentée comme ci-dessus, on ne peut exclure d'autres possibilités. La chaîne respiratoire pourrait être dans sa totalité, un système à deux électrons ce qui serait possible en dédoublant par exemple les cytochromes :



Ou bien la chaîne respiratoire pourrait être un système à un électron. Les mesures spectrophotométriques et de résonance magnétique indiquent que les flavoprotéines ne sont pas nécessairement complètement réduites au cours de leur activité mais peuvent osciller entre la forme oxydée et la forme semiquinone, ce qui apporte un argument d'ordre expérimental en faveur de la dernière possibilité.

IV. CONTRÔLE DE L'ACTIVITÉ DE LA MITOCHONDRIE

Pour qu'un système multienzymatique ait une signification métabolique, il faut non seulement qu'il soit organisé dans l'espace mais aussi que certaines étapes soient l'objet d'un contrôle. A l'occasion de l'étude de la glycolyse, nous avons déjà signalé comment on peut entrevoir certains mécanismes régulateurs de cette séquence métabolique. Dans la présente section nous allons considérer quelques aspects bien compris du contrôle et de l'intégration de l'activité de la mitochondrie (voir aussi chapitre 18).

A. CONTRÔLE DE LA RESPIRATION

1. Rôle de l'ADP

Il est évident que la pression partielle d'oxygène et la concentration en substrats de la respiration sont les premiers éléments du contrôle de la chaîne respiratoire. Il s'agit toutefois d'un contrôle assez grossier et qui

ne permet pas d'expliquer toutes les observations concernant le métabolisme de la mitochondrie.

On sait maintenant que la respiration est contrôlée par la concentration en ADP, en ATP et en P_i .

La respiration maximum est observée en présence d'ATP. Cette observation de Lardy a fait l'objet d'importantes recherches dans le laboratoire de Chance. Il a ainsi été possible d'établir une relation entre la vitesse de la respiration et le niveau d'oxydation des différents constituants de la chaîne respiratoire. Le tableau 12-9 résume les observations principales relatives à ce sujet. L'état 1 correspond à la situation de la chaîne respiratoire en l'absence de substrat et d'ADP, alors que l'état 2 est celui qui correspond à l'absence de substrat uniquement. L'état 3 est le stade de la respiration active : tous les éléments de la chaîne sont présents et c'est la chaîne elle-même qui est le facteur limitant. En l'absence d'ADP, l'état 4, la chaîne respiratoire est à l'état dit contrôlé ou de repos. L'état 5 correspond à la situation de la chaîne respiratoire lorsque l'oxygène fait défaut. A ces différents états correspond un degré de réduction variable des constituants de la chaîne, comme l'indiquent les résultats du tableau 12-9.

Tableau 12-9
ACTIVITÉ MÉTABOLIQUE DE LA MITOCHONDRIE DANS DIFFÉRENTES
CONDITIONS EXPÉRIMENTALES
(d'après Chance et Williams)

Conditions				Caractéristiques		% sous forme réduite				
Etat	[O ₂]	[ADP]	[Substrat]	Respiration	Facteurs limitants	a	c	b	FP*	NAD
1	> 0	basse	basse	faible	ADP	0	7	17	21	90
2	> 0	élevée	0	faible	substrat	0	0	0	0	0
3	> 0	élevée	élevée	rapide	chaîne respiratoire	< 4	6	16	20	53
4	> 0	basse	élevée	faible	ADP	0	14	35	40	> 99
5	0	élevée	élevée	0	O ₂	100	100	100	150	100

* Ces valeurs sont calculées à partir de la quantité de FP réduite après addition d'antimycine A à des mitochondries au stade 2. Elle correspond à 2/3 de la valeur à l'état 5.

Les transporteurs d'électrons sont oxydés au maximum quand le substrat est le facteur limitant et quand les autres constituants sont en excès. Par contre, en l'absence d'oxygène, la réduction des transporteurs est complète.

Entre ces deux états extrêmes, on trouve évidemment des degrés intermédiaires de réduction avec un gradient d'oxydation croissante lorsqu'on passe du NAD à l'oxygène. Les résultats indiquent qu'il existe une relation étroite entre la vitesse de la respiration, le taux de réduction des transporteurs et la concentration en substrat, O₂ et ADP.

Les résultats de Chance indiquent également que c'est l'ADP qui est le facteur essentiel dans la détermination du taux de la respiration, aussi bien dans la mitochondrie isolée que dans la cellule intacte : l'addition d'ADP à une suspension de mitochondries augmente la consommation

d'oxygène jusqu'à ce que l'ADP ajouté soit phosphorylé en ATP. Cette observation a été faite sur des mitochondries d'origines diverses. Il est donc vraisemblable, comme le suggère Mitchell, que la respiration et tous les processus nécessitant la fourniture d'ATP, sont intimement couplés et que le contrôle s'opère grâce à l'ADP. Ainsi donc tous les phénomènes endergoniques (transport actif, biosynthèse, contraction, bioluminescence, etc.) producteurs d'ADP stimuleraient la respiration par l'ADP qu'ils forment contrairement à l'opinion classique qui admet un contrôle des réactions endergoniques par la respiration.

2. Rôle de l'ATP

Nous avons signalé que le NAD de la mitochondrie peut être réduit à partir de succinate, et que l'énergie nécessaire au déroulement de cette séquence de réactions peut provenir de l'ATP. Il s'agit du renversement de la première phosphorylation de la chaîne respiratoire. On a également montré que la réduction peut s'effectuer à partir du cytochrome c et que le degré d'oxydo-réduction des constituants de la chaîne respiratoire est une fonction du rapport

$$\frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}] [\text{P}_i]}$$

La respiration de la mitochondrie est donc inhibée par l'ATP et on a pu montrer qu'une inhibition de 50 % de la valeur maximale est obtenue avec une concentration en ATP variant entre 50 et 100 μM . Ces concentrations sont inférieures à celles trouvées normalement dans la cellule, ce qui permet de conclure que dans la cellule intacte, la respiration est non seulement contrôlée par l'ADP mais également par l'ATP et P_i .

3. Rôle du système D- β -hydroxybutyrate-acétoacétate

Lorsqu'on ajoute de l'acétoacétate à une suspension de mitochondries on observe une réduction de ce substrat en D- β -hydroxybutyrate si le succinate est également présent dans le milieu. On ne peut envisager une réduction directe de l'acétoacétate par le succinate puisque le potentiel d'oxydo-réduction du couple D- β -hydroxybutyrate-acétoacétate (-0.27 V) est beaucoup plus négatif que celui du système succinate-fumarate (0.03 V).

Il est donc clair que de l'énergie doit être fournie au système. Ceci est bien démontré par le fait qu'en l'absence d'oxygène, la réduction en question ne se fait que si l'ATP est ajouté au milieu. On sait actuellement que la réduction se fait par un renversement de réactions constituant certaines étapes de la phosphorylation de la chaîne respiratoire et qu'en dernière analyse, la réduction de l'acétoacétate se fait à partir du NAD, réduit lui-même par le succinate.

L'enzyme catalysant cette réaction (la déshydrogénase du D-3-hydroxybutyrate, E.N. 1.1.1.30) est présent uniquement dans la mitochondrie. Comme le rapport $[\text{D-3-hydroxybutyrate}] : [\text{acétoacétate}]$ est directement proportionnel au rapport $[\text{NADred}] : [\text{NAD}]$ qui est lui-même une mesure du rapport $[\text{ATP}] : [\text{ADP}] [\text{P}_i]$, on a proposé que le couple D-3-hydroxybutyrate-acétoacétate jouerait, chez les mammifères, le rôle de messenger chimique entre la mitochondrie hépatique où il serait produit et la mitochondrie des

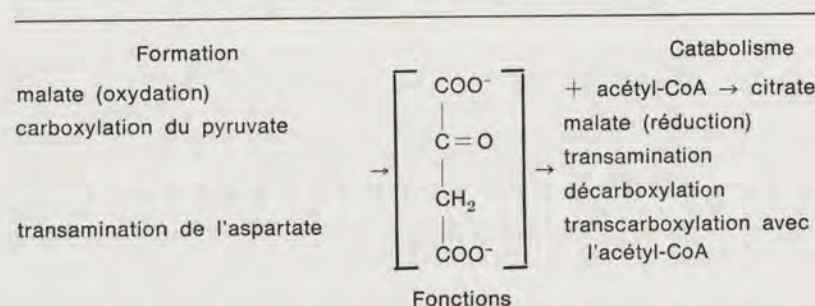
organes périphériques. A ce dernier niveau, le couple oxydo-réducteur pourrait exercer un contrôle sur la chaîne respiratoire en influençant son état d'oxydo-réduction ou le rapport $[ATP] : [ADP] [P_i]$. Il s'agirait donc d'un contrôle en principe identique à celui qu'exerce le système lactate-pyruvate sur la séquence glycolytique.

B. CONTRÔLE DU CYCLE DE KREBS

Comme dans le cas de n'importe quelle autre séquence métabolique, le cycle de Krebs peut être contrôlé au niveau de la concentration des différents substrats ou des enzymes catalysant les diverses étapes du cycle.

La figure 12-4 résume les principaux points de convergence du cycle avec d'autres voies métaboliques et montre comment la concentration en substrat peut être contrôlée. Certains intermédiaires du cycle peuvent exercer un rôle intégrateur important par mécanisme de feedback.

L'exemple classique est celui de l'oxaloacétate qui inhibe la déshydrogénase succinique (E. N. 1.3.99.1). L'ATP contrôle lui-même cette inhibition. D'autre part, la concentration en oxaloacétate est contrôlée par de nombreuses réactions qui sont résumées dans la figure 12-15.



1. Cycle de Krebs (oxydation de l'acétyl-CoA, du glutamate et de l'isocitrate).
2. Biosynthèse des acides gras.
3. Précurseur du phosphopyruvate (synthèse du glycogène).
4. Inhibition de l'oxydation du malate et du succinate.

FIG. 12-15. Contrôle et fonction du pool intramitochondrial de l'oxaloacétate (d'après Lehninger).

Le bilan de l'ensemble de ces réactions (les unes tendant à augmenter la concentration en oxaloacétate, les autres tendant à la diminuer) ainsi que le niveau de l'ATP sont responsables de la vitesse de l'oxydation du succinate et de la formation du citrate dans le cycle de Krebs.

C. LES COMPARTIMENTS DE LA MITOCHONDRIE

La mitochondrie *in situ*, ou isolée dans de bonnes conditions, est imperméable à de nombreux substrats des séquences métaboliques qui se déroulent à son niveau. Nous avons déjà signalé le cas du NADred et

montré comment le NADred d'origine cytoplasmique pouvait néanmoins fournir des équivalents de réducteur à la chaîne respiratoire par le cycle de l' α -glycérophosphate. La mitochondrie est aussi imperméable à la plupart des substrats du cycle de Krebs et seul un traitement aux ultrasons, ou à l'aide de solutions hyper- ou hypotoniques permet d'augmenter la perméabilité de la mitochondrie à différents substrats auxquels elle est normalement inaccessible (Tableau 12-10).

Tableau 12-10
EFFET DES ULTRASONS SUR LA PERMÉABILITÉ DE LA MITOCHONDRIE
(d'après Van den Bergh et Slater)

Substrat	QO ₂ mitochondrie	
	intacte	après ultrasons
α -glycérophosphate	634	464
pyruvate + malate	263	244
NADred	31	381
glutamate	23	53
Cycle de Krebs :		
isocitrate	21	298
α -cétooglutarate	25	131
succinate	36	257
malate	24	68

Les observations les plus intéressantes sont celles concernant le compartimentage du pool intramitochondrial de différents substrats. Le cas le mieux étudié est celui du NAD, qui est distribué en deux ou plusieurs pools indépendants, comme le démontre le fait que seule une partie du NAD est accessible à la réduction par le succinate ou le D-3-hydroxybutyrate. Ces points indiquent un niveau élevé d'organisation à l'échelle de l'ultrastructure de l'organite.

D. INTÉGRATION DE LA GLYCOLYSE ET DE LA RESPIRATION

Lorsqu'une cellule respire, la fermentation ou la formation de lactate est inhibée : c'est l'effet Pasteur. Le phénomène inverse, l'inhibition de la respiration par le glucose, est appelé l'effet Crabtree (p. 284). On a longtemps recherché un mécanisme susceptible d'expliquer la nature des relations existant entre la glycolyse et la mitochondrie. On a attribué un rôle important au phosphate inorganique en se basant sur le fait que la vitesse de la glycolyse est directement en rapport avec la concentration en P_i . L'ADP est considéré par d'autres comme étant l'élément intégrateur principal : il y aurait compétition entre glycolyse et chaîne respiratoire pour cette molécule.

Enfin le NADred pourrait également jouer un rôle important dans le contrôle des vitesses relatives des deux séquences métaboliques.

Le NADred d'origine extramitochondriale est formé par l'étape oxydative de la glycolyse : il est réoxydé soit sous l'influence de la déshydrogénase lactique (pyruvate $\rightarrow$ lactate) soit par la chaîne respiratoire à l'intervention du cycle du 3-glycérophosphate (p. 332) et en présence de la déshydrogénase spécifique (E. N. 1.1.1.8).

Cet enzyme fait défaut ou existe en faible concentration dans les cellules cancéreuses, ce qui permet d'expliquer la formation aérobie de lactate : le NADred cytoplasmique ne peut, en l'absence de cette déshydrogénase, être oxydé par la chaîne respiratoire et doit donc l'être par le pyruvate.

Il est actuellement difficile de décider si l'effet Pasteur peut s'expliquer par l'une des trois théories ci-dessus. Il est vraisemblable que plusieurs facteurs interviennent. La glycolyse et la chaîne respiratoire sont des séquences métaboliques réversibles contrôlant et étant contrôlées par le rapport $[ATP] : [ADP] [P_i]$. Il paraît donc logique d'attribuer aux espèces NAD, NADred, ATP, ADP et P_i un rôle important, mais variable selon les circonstances, dans l'établissement des relations de réciprocité unissant la glycolyse et la chaîne respiratoire.

V. UTILISATION DE L'ÉNERGIE LIBRE DANS LA MITOCHONDRIE

L'énergie provenant du catabolisme des molécules qui entrent dans les séquences métaboliques décrites dans les pages précédentes est partiellement récupérée sous forme de composés à liaisons dites riches, dont l'ATP est le principal représentant.

Les composés phosphorylés constituent la source principale d'énergie libre utilisée par la cellule pour alimenter les processus endergoniques tels les biosynthèses, les déplacements d'ions, de molécules et d'eau, la génération de potentiel et de courant électriques, la bioluminescence, le travail mécanique, etc.

Par son rôle générateur d'ATP la mitochondrie participe donc, indirectement il est vrai, à toutes ces activités cellulaires.

Mais la mitochondrie est elle-même le siège de la plupart de ces activités et, comme dans le cas de la cellule, le problème se pose de savoir comment s'opère la conversion de l'énergie chimique.

A. TRANSPORT ACTIF ET TRAVAIL MÉCANIQUE

La mitochondrie isolée est capable de maintenir un gradient de concentration ionique entre son liquide intérieur et le milieu qui la baigne. Cette situation est obtenue grâce à l'existence d'un mécanisme de transport actif des cations localisé dans la membrane. Comme dans le cas de la membrane cellulaire, on pense généralement que c'est l'ATP qui est la source immédiate d'énergie et qu'une ATPase (E. N. 3.6.1.3) jouerait un rôle important dans le mécanisme intime du couplage transfert d'énergie-transfert de matière. D'autres auteurs pensent que cette partie de l'énergie libérée dans la chaîne respiratoire, et qui n'est pas employée à la synthèse d'ATP, serait directement utilisée pour établir les gradients ioniques.

L'énergie libérée au cours de la respiration est également utilisée pour effectuer un travail mécanique. On sait en effet que dans une cellule intacte, des fibroblastes en culture par exemple, la mitochondrie est l'objet de changements de forme et de volume. On sait que ces changements sont

directement liés à l'activité de la chaîne respiratoire et à la présence de protéines contractiles dans la mitochondrie.

Le système transformant l'énergie chimique en énergie mécanique dans la mitochondrie, a beaucoup d'analogies avec le système de la myofibrille, ou encore avec celui mis en évidence dans les globules rouges. C'est pourquoi on pense généralement qu'il s'agit, fondamentalement, d'un système biochimique commun (p. 510).

Ces diverses destinées de l'énergie libre dans la mitochondrie seront examinées plus en détail à l'occasion de notre étude du transport actif et de la contraction musculaire.

En ce qui concerne les biosynthèses, il est bien démontré que la mitochondrie possède les systèmes enzymatiques capables de mener à bien la synthèse de ses constituants principaux, les lipides et les protéines.

B. BIOSYNTHESE DES ACIDES GRAS DANS LA MITOCHONDRIE

On admet généralement que la synthèse des acides gras suit une voie différente de celle de leur oxydation et fait intervenir une série d'enzymes différents.

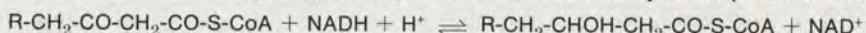
Il est d'opinion courante que cette voie biosynthétique est extramitochondriale et qu'elle représente la voie la plus importante responsable de la synthèse de ces molécules. Cette voie extramitochondriale fait intervenir le malonyl-CoA qui est synthétisé à partir d'acétyl-CoA et de CO_2 (p. 255).

En se basant sur le fait que la mitochondrie ne possède pas d'enzyme catalysant la carboxylation de l'acétyl-CoA, on a postulé que cet organe ne pourrait pas opérer la synthèse d'acides gras, *de novo*, bien qu'il soit le siège de réactions aboutissant à l'allongement de la chaîne hydrocarbonée des acides gras.

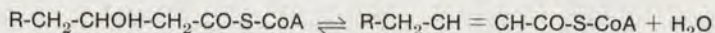
Le détail de ces réactions n'est pas connu mais on admet que l'allongement de la chaîne se fait selon les quatre étapes suivantes :



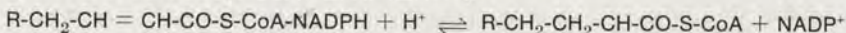
Cette réaction est catalysée par l'acyltransférase de l'acétyl-CoA (E.N.2.3.1.16)



Cette réaction est catalysée par la L-3-hydroxyacyl-CoA : NAD oxydoréductase



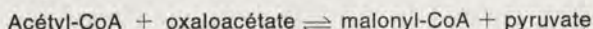
Cette réaction est catalysée par l'hydro-lyase du L-3-hydroxyacyl-CoA (hydratase de l'énol-CoA, E. N. 4.2.1.17)



Cette réaction est catalysée par la déshydrogénase de l'acyl-CoA (E. N. 1.3.99.3)

Le système qui vient d'être décrit fonctionne avec des acides gras à chaîne saturée ou non, et l'allongement s'opère par l'adjonction d'une unité à deux carbones.

Indépendamment de la séquence qui vient d'être décrite, on sait que la mitochondrie est capable de synthétiser le malonyl-CoA, sans carboxylation de l'acétyl-CoA, selon le schéma



A partir du malonyl-CoA ainsi formé, la synthèse des acides gras est possible et s'opère en fait dans la mitochondrie, à une vitesse telle que certains auteurs pensent que la mitochondrie est la source principale des acides gras cellulaires.

On a également montré que la mitochondrie est le siège de la synthèse de phospholipides. L'incorporation de phosphate inorganique dans la lécithine ou le phosphate d'inositol a été bien démontrée et dépend de l'intégrité de la respiration.

D'autres molécules telles les acides gras, la sérine, la phosphorylcholine, l'acide phosphatidique, le glycérophosphate et le glycérol sont également utilisées par la mitochondrie intacte pour la synthèse de lipides complexes. Notons toutefois qu'en dépit du fait qu'on n'a pas encore terminé l'inventaire des enzymes d'origine mitochondriale intervenant dans la synthèse des lipides complexes, on sait déjà que certains enzymes intervenant dans les étapes terminales de ces synthèses sont localisés au niveau du réticulum endoplasmique. C'est le cas de l'enzyme catalysant la dernière étape de la synthèse de la phosphatidylcholine.

C. BIOSYNTHESE DES PROTÉINES DANS LA MITOCHONDRIE

Les ribosomes libres ou fixés sur le réticulum endoplasmique jouent un rôle important dans la synthèse des protéines. Comme jusqu'à présent, on n'a pu mettre en évidence l'existence de ribosomes dans la mitochondrie, on a conclu que cet organe est incapable de synthétiser les protéines.

L'observation selon laquelle l'administration d'acides aminés radioactifs à un animal est suivie d'un marquage des protéines de la mitochondrie était donc interprétée comme étant le résultat d'une synthèse extra-mitochondriale.

Pourtant, on a pu démontrer que la mitochondrie intacte incorpore les acides aminés dans les protéines des membranes mitochondriales. D'autre part, dans la fraction dite soluble des protéines de la mitochondrie, on a mis en évidence un enzyme activateur des acides aminés capable de catalyser la formation d'un dérivé aminoacyl de sRNA. La question de savoir si la mitochondrie contient du sRNA est loin d'être résolue et le problème reste donc posé de déterminer si la synthèse des protéines est possible sans la participation de cette espèce moléculaire.

En tout état de cause, il est actuellement bien démontré que la mitochondrie est capable de synthétiser des protéines. Les travaux de Chèvremont et de ses collaborateurs, mettant en évidence la présence de DNA dans la mitochondrie, ouvrent des perspectives nouvelles quant à l'interprétation des mécanismes responsables de la synthèse des protéines dans cet organe, ainsi que de l'origine biologique de la mitochondrie et des divisions dont elle est le siège.

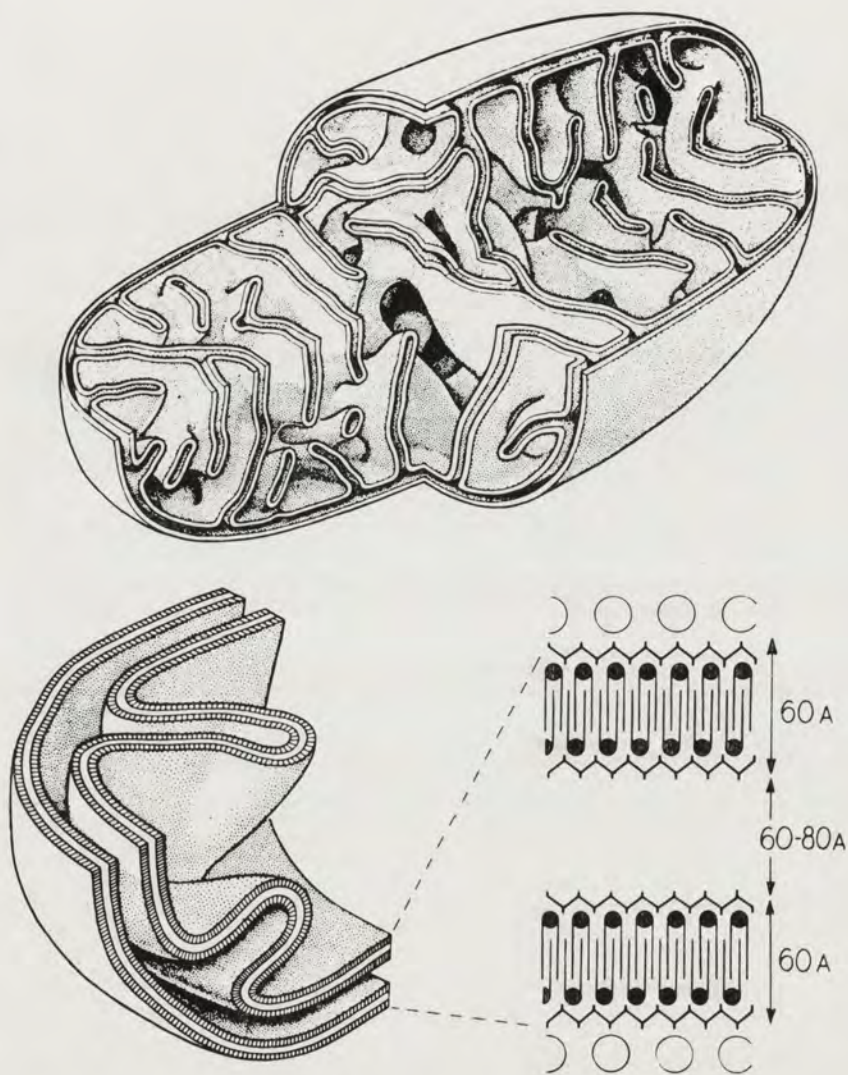


FIG. 12-16. Représentation schématique de la structure et de l'ultrastructure de la mitochondrie (d'après Wilkie).



FIG. 12-16a. Mitochondrie du rein de souris (tube proximal). Les membranes sont formées d'unités globulaires. $\times 320\,000$ (d'après Sjöstrand).

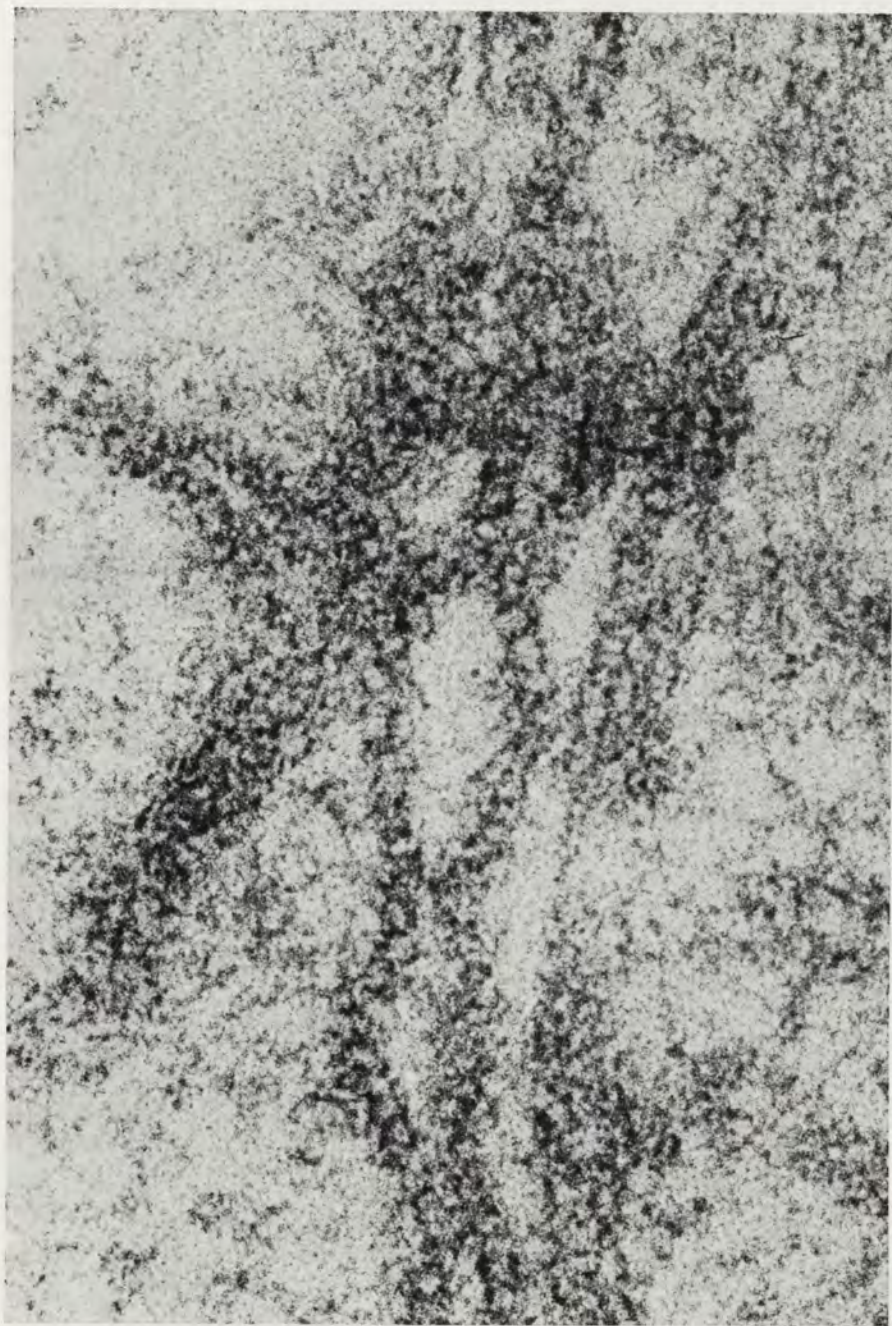


FIG. 12-16b. Agrandissement d'une partie de la figure 12-16a mettant en évidence la structure des unités globulaires. $\times 1\,000\,000$ (d'après Sjöstrand).

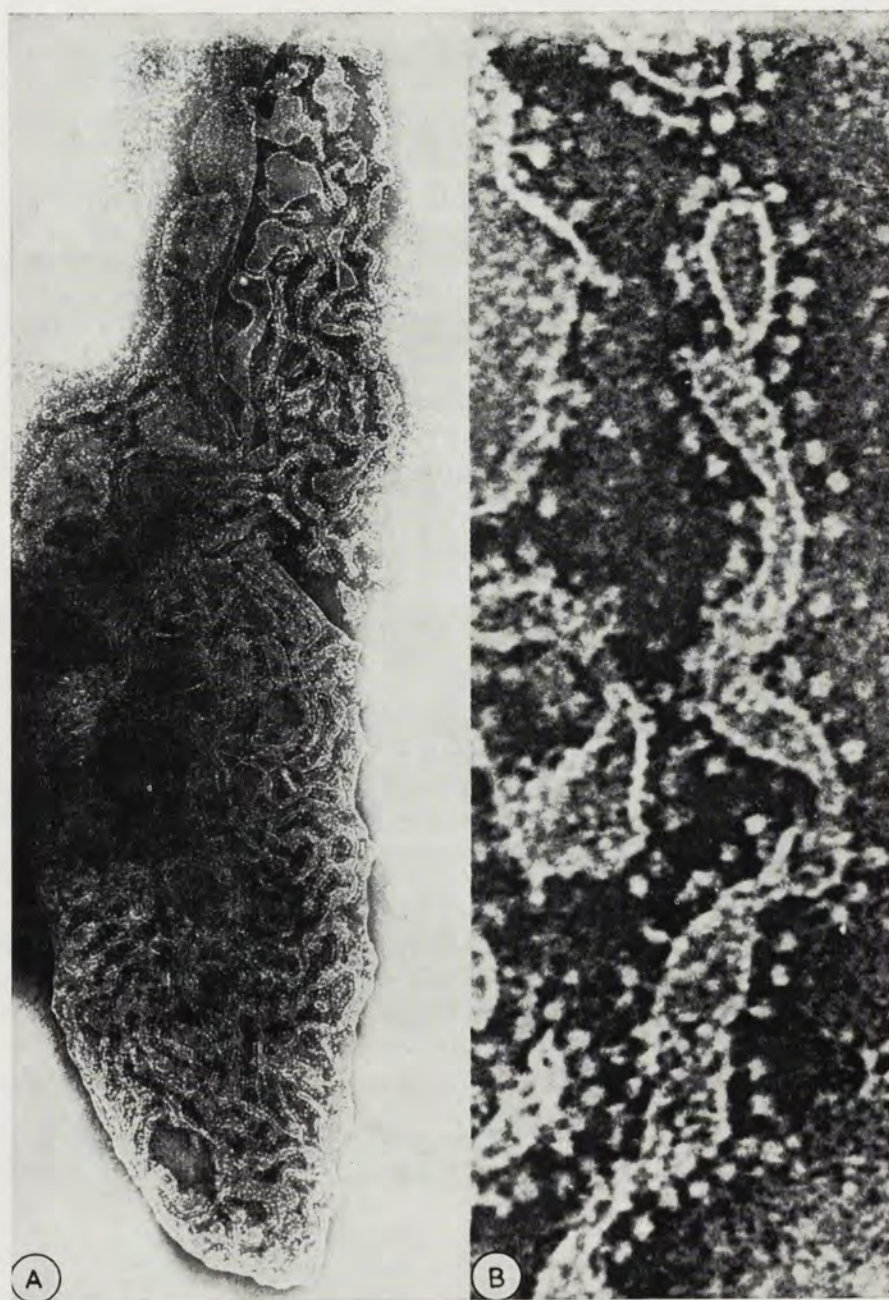


FIG. 12-17. Membranes mitochondriales (cœur de bœuf) montrant la disposition régulière des particules élémentaires ; à gauche $\times 62\,000$; à droite $\times 420\,000$ (d'après Fernandez-Moran).

VI. ULTRASTRUCTURE DE LA MITOCHONDRIE

La mitochondrie se présente comme un organe intracellulaire de forme allongée et dont les dimensions sont de l'ordre du μ .

La lumière de la mitochondrie est entourée d'un système complexe de membranes organisé de telle sorte qu'on peut considérer qu'il s'agit d'un sac contenu dans un autre sac (Fig. 12-16). L'espace compris entre les deux sacs n'est pas en communication avec la lumière de la mitochondrie ou avec l'espace extramitochondrial. La membrane interne envoie, vers la lumière de l'organe une série de prolongements, les crêtes mitochondriales, dont la forme et la structure varient considérablement selon l'origine de la mitochondrie. Les membranes formant la paroi des enveloppes externe et interne ont une épaisseur relativement constante qui varie entre 60 et 70 Å. La distance entre les enveloppes est voisine de 70 Å.

La lumière de la mitochondrie est remplie d'une matrice semi-rigide, riche en protéines et en lipides et qui contient des granules de 250 Å de diamètre en moyenne. Leur nombre, leur forme et leurs dimensions varient avec l'état métabolique de la mitochondrie.

Observées dans de bonnes conditions de fixation, les enveloppes de la mitochondrie se révèlent comme possédant une ultrastructure qui est actuellement loin d'être complètement élucidée. Nous avons déjà signalé l'impérieuse nécessité de l'organisation spatiale des éléments constituant une séquence métabolique et nous avons présenté, à l'occasion de l'étude de la chaîne respiratoire, les arguments démontrant l'ordre dans lequel les transporteurs d'électrons doivent être disposés pour assurer le transfert des électrons jusqu'à l'oxygène moléculaire.

On pense que c'est au niveau de l'enveloppe interne de la mitochondrie que les constituants de la chaîne respiratoire sont organisés en complexes polyenzymatiques.

Les avis sont partagés en ce qui concerne le type d'organisation et l'ultrastructure des enveloppes de la mitochondrie. Les enveloppes interne et externe ont d'abord été décrites comme étant formées d'une couche bimoléculaire de lipides recouverte de part et d'autre par un réseau de protéines. C'est le concept de la membrane unitaire de Robertson et ce type d'organisation serait caractéristique de toutes les structures membranaires de la cellule (Chap. 10).

D'autres auteurs considèrent que la membrane unitaire est un artéfact de préparation et qu'en fait la membrane est constituée par la disposition de structures globulaires en série (Fig. 12-16).

Enfin, on a décrit au niveau des crêtes mitochondriales une structure en forme de bouton, la particule élémentaire (Fig. 12-17). Cette structure pourrait être obtenue par fractionnement de la mitochondrie et comme le montrent les travaux de Green, Fernandez-Moran et de leurs collaborateurs, chaque particule élémentaire contiendrait tous les éléments de la chaîne respiratoire, y compris les éléments permettant le couplage de la respiration à la synthèse d'ATP. Le « pied » de la particule élémentaire contiendrait les protéines contractiles qui serviraient à assurer l'organisation des particules pour former la superstructure qu'est l'enveloppe interne de la mitochondrie (Fig. 12-18 à 12-20).

Si l'accord est loin d'être établi en ce qui concerne le détail de l'ultra-structure des enveloppes de la mitochondrie, il est bien démontré que les enzymes des séquences métaboliques de la mitochondrie sont spatialement organisés dans le système complexe des membranes dont ils constituent une partie importante en tant qu'éléments structuraux.

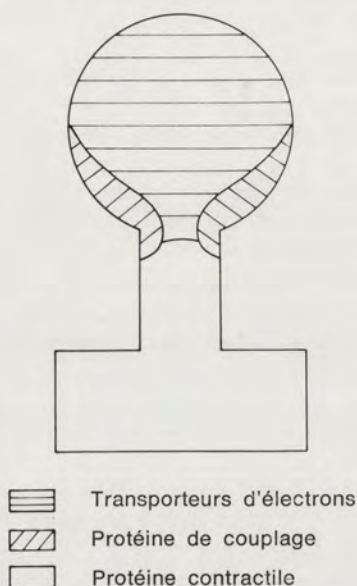


FIG. 12-18. Le complexe plurienzymatique de la particule élémentaire (d'après Green).

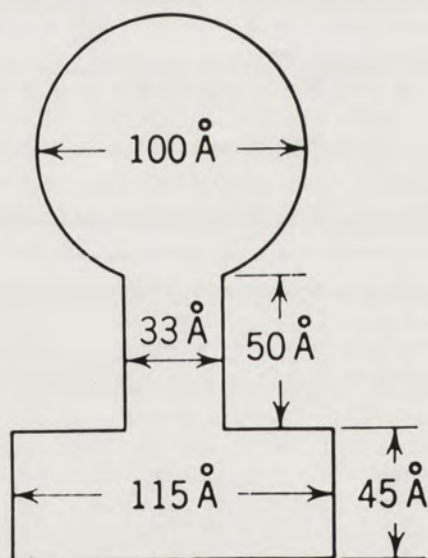


FIG. 12-19. Dimensions de la particule élémentaire. Poids moléculaire 1.35×10^6 (d'après Green).

VII. FORMATION ET ORIGINE DE LA MITOCHONDRIE

Dès la découverte de la mitochondrie, le problème de sa formation dans la cellule s'est posé. La première théorie proposée à ce sujet a été celle de la formation *de novo* à partir des molécules du cytoplasme. Les arguments présentés en faveur de cette théorie sont assez peu convaincants. C'est pourquoi elle est aujourd'hui presque abandonnée.

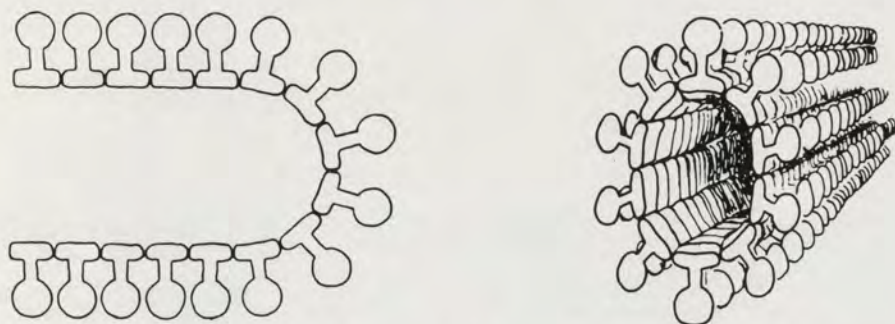


FIG. 12-20. Schéma illustrant la disposition des particules élémentaires dans les crêtes mitochondriales (d'après Green).

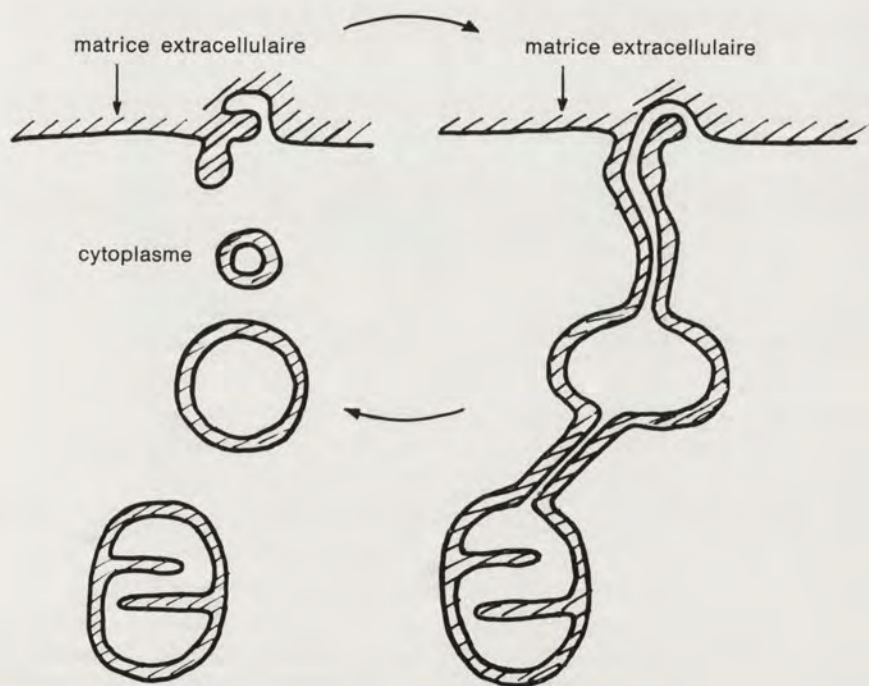


FIG. 12-21. Formation de la mitochondrie selon la théorie de l'invagination de la membrane cellulaire (d'après Robertson).

Sur la base d'observations faites au microscope électronique sur des cellules en croissance et en division, Robertson a suggéré que la mitochondrie serait formée à partir de la membrane cytoplasmique selon le mécanisme illustré par la figure 12-21.

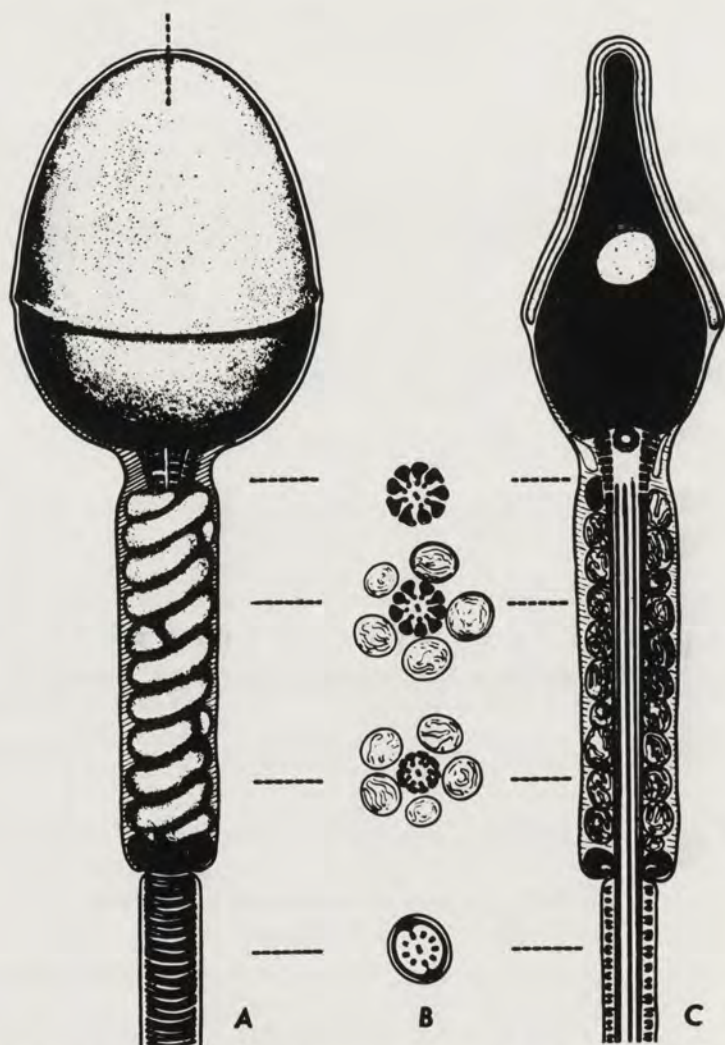


FIG. 12-22. Disposition hélicoïdale des mitochondries dans le col du spermatozoïde (d'après Fawcett).

Enfin d'autres auteurs considèrent que la mitochondrie se divise et croît au sein du cytoplasme selon un rythme en relation avec la division et la croissance cellulaire. La mitochondrie proviendrait ainsi d'une mitochondrie préexistante provenant en dernière analyse de l'œuf ou du spermatozoïde (Fig. 12-22).

Dans cette conception il reste à expliquer l'origine de la mitochondrie dans l'évolution. La mitochondrie est un organite intracellulaire très généralement répandu et qui est présent même chez les monocellulaires. Toutefois, les bactéries et certaines algues monocellulaires en sont dépourvues. Les dimensions de ces microorganismes sont d'ailleurs voisines de la plus petite mitochondrie que nous connaissons, ce qui exclut la possibilité de concevoir la présence d'une mitochondrie dans une bactérie. On sait, depuis les travaux de Mitchell, que la membrane bactérienne possède la plupart des caractéristiques biochimiques de celles de la mitochondrie. C'est pourquoi on considère que l'association cellule-mitochondrie représenterait un type particulier de relation entre l'hôte et le parasite, ayant évolué vers la symbiose que nous connaissons aujourd'hui (voir chapitre 9).

A CONSULTER

- AMBE, K. S. et VENKATARAMAN, A., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1959, **1**, 133.
- BOMSTEIN, R., GOLDBERGER, R. et TISDALE, H. D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1960, **2**, 234.
- CHANCE, B. et HESS, B., *J. Biol. Chem.*, 1962, **234**, 2404.
- CHANCE, B. et WILLIAMS, G. R., *Adv. in Enzymol.*, 1956, **17**, 65.
- FAWCETT, D. W., *Intern. Rev. Cytol.*, 1958, **7**, 208.
- FERNANDEZ-MORAN, H., ODA, T., BLAIR, P. V. et GREEN, D. E., *J. Cell. Biol.*, 1964, **22**, 63.
- GREEN, D. E., *Israel J. Med. Sci.*, 1965, **1**, 1187.
- GREEN, D. E. et FLEISCHER, S. in D. M. Greenberg : *Metabolic Pathways*, Vol. 1, Academic Press, New York, 1960.
- GREEN, D. E., HATEFI, Y. et FECHNER, W. F., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1959a, **1**, 45.
- GREEN, D. E., JÄRNEFELT, J. et TISDALE, H. D., *Biochim. Biophys. Acta*, 1959b, **31**, 34.
- HATEFI, Y., *Adv. in Enzymol.*, 1963, **25**, 275.
- LEHNINGER, A. L., *The Mitochondrion*. Benjamin, New York, 1964.
- ROBERTSON, J. D., *Biochem. Soc. Symp.*, 1959, **16**, 3.
- SJÖSTRAND, P. S., *J. Ultrastruct. Res.*, 1963, **9**, 340.
- VAN DEN BERG, S. G. et SLATER, E. C., *Biochem. J.*, 1962, **82**, 362.
- WILKIE, D., *The cytoplasm in Heredity*. Wiley & Sons, New York, 1964.
- Comparative biochemistry* (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 1 (1960), 5 (1963). Academic Press, New York.
- Metabolic pathways*, 2nd edit. of *Chemical pathways of metabolism*. (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 1. Academic Press, New York, 1960.
- Oxidases and related redox systems*. *Proceedings of an Internat. Symposium held in Amherst, Mass, July, 15-19, 1964*. 2. Vol. (Publié sous la direction de T. E. King, H. S. Mason, M. Morrison). Wiley, New York, 1965.

CHAPITRE 13

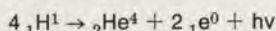
La photosynthèse et l'accumulation d'énergie libre par les autotrophes

I. Source d'énergie libre	353
II. Accumulation d'énergie libre par les autotrophes	354
III. La photosynthèse	355
A. Le thylakoïde	355
B. Les constituants du thylakoïde intervenant dans la photosynthèse	359
1. Pigments	359
2. Cofacteurs à faible poids moléculaire	360
3. Protéines	360
C. Les étapes de la photosynthèse	360
1. Etape photochimique	360
2. Phosphorylation photosynthétique	361
3. Conversion de CO ₂ en glucides	363
IV. La photosynthèse chez les bactéries pourpres, brunes ou vertes	365
1. Chlorobactériacées	367
2. Thiorhodacées	367
3. Athiorhodacées	367

I. SOURCE D'ÉNERGIE LIBRE DE LA BIOSPHERE

Un organisme vivant a besoin d'une source constante d'énergie. En termes de thermodynamique nous pouvons dire que nous devons disposer d'un mécanisme pour capturer de l'énergie libre et la convertir en un combustible utilisable par la cellule. La source d'énergie libre de la bio-

sphère provient de la réaction nucléaire qui a lieu dans le soleil. Cette réaction peut être résumée dans l'équation



L'hydrogène ordinaire a un noyau fait d'un unique proton, autour duquel gravite un unique électron. L'atome d'hélium ordinaire a deux protons et deux neutrons dans le noyau, et deux électrons externes. Si nous déterminons exactement la masse d'un proton et celle d'un neutron, et si nous ajoutons ces deux valeurs et multiplions par deux, nous obtenons 4.03304 unités. Mais si nous mesurons la masse du noyau d'hélium, nous obtenons 4.00279. Il y a entre le calcul et la mesure une différence de 0.03025 unités, soit en énergie l'équivalent de 28.2 MeV (millions d'électron volts) ⁽¹⁾.

C'est l'énergie de liaison, masse perdue pour maintenir assemblées des particules telles que les protons qui, du fait de leurs dimensions extrêmement petites, développent des forces de répulsion considérables.

Comme cette énergie de liaison est égale à 0 dans l'atome d'hydrogène, et est égale à 28.2 MeV dans l'atome d'hélium, il suffit de transformer un atome d'hydrogène en un atome d'hélium pour libérer 28 MeV. C'est ce qui se passe au sein de la masse du soleil auquel son diamètre considérable (1 392 000 km ou 109 fois le diamètre de la terre) confère un champ de gravitation assez fort pour maintenir l'hydrogène, lequel forme 99 % de sa masse. Comme le centre du soleil a une température de 20 000 000 °C, et comme il y règne une pression de plusieurs dizaines de milliers d'atmosphères, l'énergie cinétique des atomes d'hydrogène est suffisante pour que leurs collisions produisent des transformations nucléaires. Le soleil transforme des atomes d'hydrogène en atomes d'hélium au cours d'un processus cyclique dans lequel le carbone intervient comme catalyseur. C'est cette énergie nucléaire qui atteint la biosphère sous la forme de chaleur et de radiations diverses, en particulier celles qu'utilisent les cellules pourvues de chloroplastes.

II. ACCUMULATION D'ÉNERGIE LIBRE PAR LES AUTOTROPHES

Il existe des organismes capables, par la mise en jeu de mécanismes chimiques qui leur sont propres, d'introduire en certains points de leur métabolisme un apport d'énergie extérieure, énergie chimique ou énergie électromagnétique.

C'est par l'intermédiaire de ces organismes, dits autotrophes, que l'énergie et le carbone pénètrent dans la biosphère.

Les organismes capables d'utiliser directement l'énergie libre produite par le soleil sont appelés autotrophes photosynthétiques, alors que ceux

⁽¹⁾ 1 électron-volt = l'énergie cinétique qu'une particule portant une charge électronique acquiert en subissant une chute de potentiel d'un volt. L'unité la plus commode est un million de fois plus grande que la précédente (MeV). L'énergie correspondant à un électron-volt est égale à $(1.60207 \pm 0.00007) \times 10^{-12}$ ergs. L'énergie en calories par mole correspondant à un électron-volt par molécule = 23.05285 ± 3.2 cal/mole.

qui mettent en jeu l'énergie résultant d'une oxydation par l'oxygène moléculaire, d'un constituant inorganique du milieu extérieur, sont dits autotrophes chimiosynthétiques (voir chapitre 19).

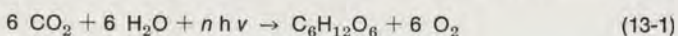
Les autotrophes utilisent le CO_2 comme source de carbone et l'énergie capturée est emmagasinée sous forme d'énergie chimique dans des glucides. Elle est alors libérée au cours de réactions chimiques exergoniques et utilisée pour les activités caractéristiques de la vie. Une autre catégorie d'organismes, les hétérotrophes, groupe ceux qui sont incapables de capturer l'énergie radiante ou l'énergie de molécules inorganiques simples : ils dépendent donc, à ce point de vue de la fourniture des glucides synthétisés par les autotrophes.

III. LA PHOTOSYNTHÈSE

On donne traditionnellement à la synthèse de glucides à partir d'anhydride carbonique et d'énergie libérée par une réaction chimique exergonique, le nom de chimiosynthèse (voir chapitre 19).

D'autres organismes sont capables d'opérer la photosynthèse, c'est-à-dire la synthèse de glucides avec utilisation de l'énergie électromagnétique fournie par la capture de l'énergie libre des photons de la lumière solaire. Par chimiosynthèse et par photosynthèse, nous entendrons donc des synthèses de glucides. Le terme de photométabolisme désigne les autres formes d'effets métaboliques de la lumière.

L'équation générale de la photosynthèse peut se formuler comme suit :



Dans cette équation, $h \nu$ représente un photon de lumière visible et n le nombre de photons nécessaires. Contrairement à ce qu'on a pensé autrefois, le nombre n n'est nullement une constante. L'équation (13-1) est une représentation très sommaire du phénomène, lequel, considéré à l'échelle moléculaire, se révèle d'une complexité qui, malgré les travaux de nombreux biochimistes et biophysiciens poursuivis au cours du dernier quart de siècle, n'est pas encore totalement élucidée.

A. LE THYLAKOÏDE

Dans l'état actuel des recherches, on peut dire que la photosynthèse se déroule au niveau d'un système lamellaire pigmenté. Une lamelle pourvue de pigments porte le nom de thylakoïde. Le système plurienzymatique élémentaire, capable de réaliser la photosynthèse porte le nom de quantasome. Par analogie avec l'organisation de la mitochondrie, on considère que le thylakoïde est formé d'un ensemble de quantasomes. Les thylakoïdes des plantes vertes et des algues vertes sont groupés dans un organite intracellulaire aplati et de forme plus ou moins circulaire, le chloroplaste. Ses dimensions sont voisines de 5 μ en longueur et de

2 à 3 μ d'épaisseur. Le chloroplaste est capable de croître et de se multiplier. Chez les plantes supérieures, il se développe à partir d'une particule intracellulaire peu colorée : le proplastide. Le développement et la croissance s'effectuent selon les phases qui sont résumées dans le schéma de la figure 13-1.

Dans le chloroplaste des plantes supérieures, on observe un arrangement particulier des lamelles. Certaines lamelles s'organisent en disques granaires qui se présentent en coupe sous la forme d'une vésicule aplatie. Le centre de la vésicule s'appelle le lumen.

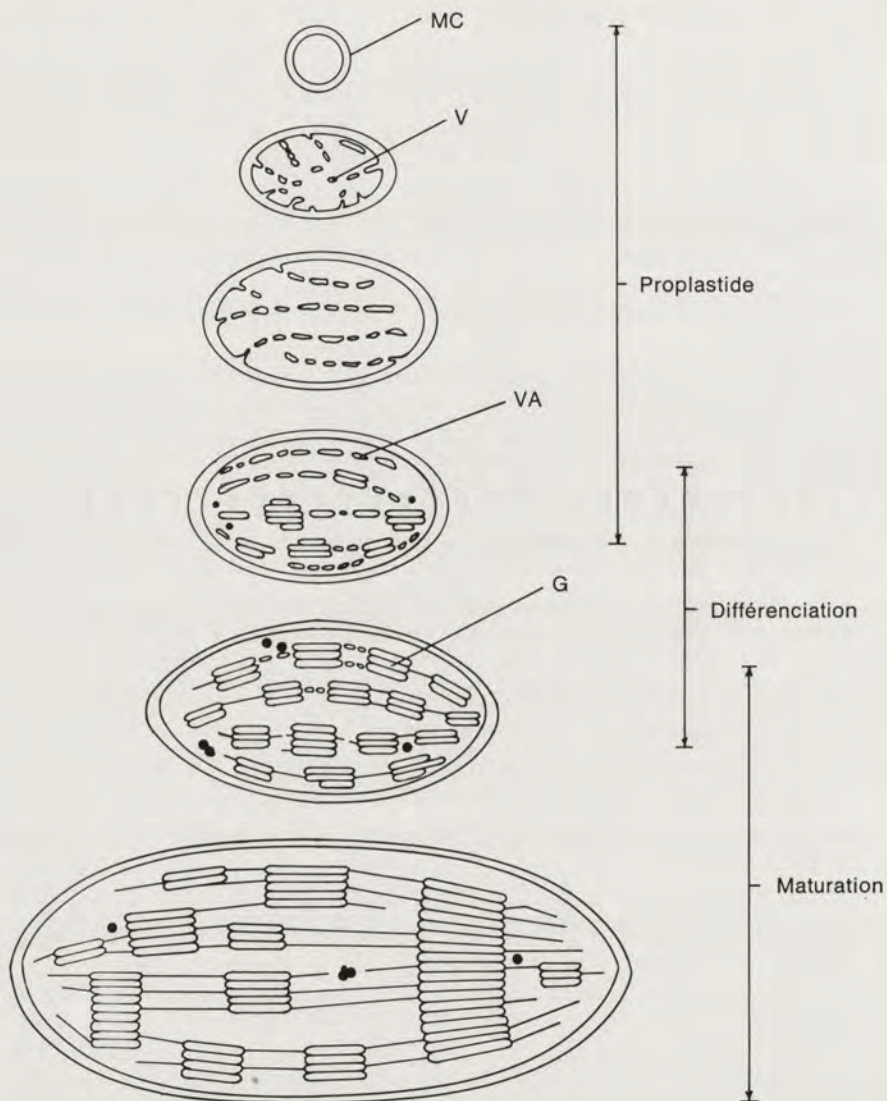


FIG. 13-1. Le développement et la croissance du chloroplaste. MC : membrane du chloroplaste - V : vésicule - VA : vésicule aplatie - G : granum (d'après Wettstein).

Les disques granaires sont empilés comme des pièces de monnaie par groupes variant de 10 à 100 et forment alors ce qu'il est convenu d'appeler le granum.

Chez les algues bleues, on ne trouve pas de chloroplastes. Le système lamellaire pigmenté existe néanmoins et les thylakoïdes sont distribués dans tout le cytoplasme.

La microscopie électronique a permis de mettre en évidence certains aspects particuliers de l'ultrastructure des systèmes lamellaires. Il est apparu que le thylakoïde se présente comme étant formé d'unités globulaires. La membrane du chloroplaste, par contre, serait une membrane unitaire typique (p. 347).

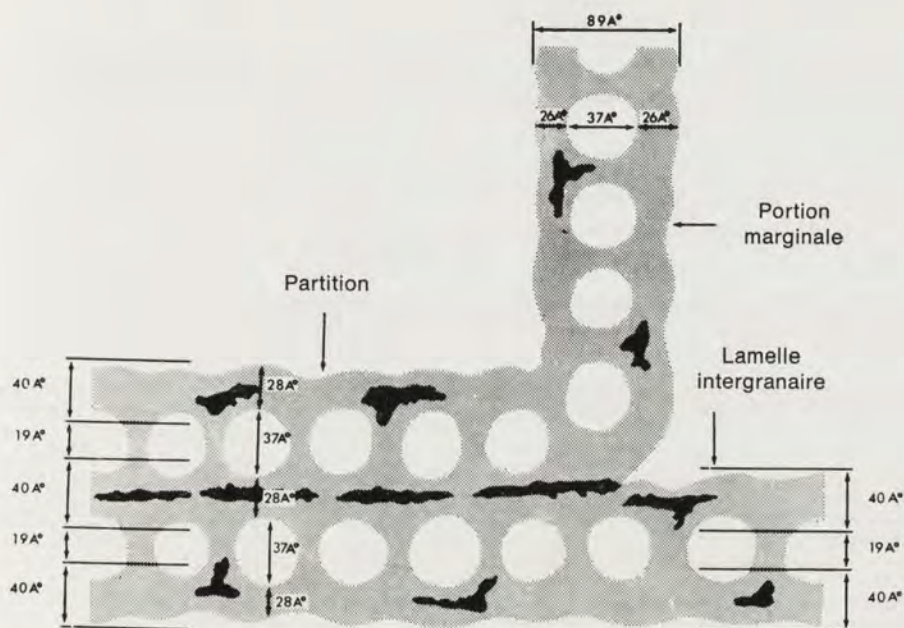


FIG. 13-2. Organisation du système lamellaire d'un granum (d'après Weier et al.). Explications dans le texte.

Le schéma de la figure 13-2 montre l'organisation du système lamellaire d'un disque granair tel qu'elle peut être déduite des images obtenues au microscope électronique. La lamelle intergranaire est formée d'une seule rangée d'unités globulaires. La partition est formée de la juxtaposition de deux membranes globulaires. La portion marginale représente la jonction entre les deux faces du disque granair.

La figure 13-3 montre une interprétation détaillée de l'organisation des systèmes moléculaires intervenant dans la structure du thylakoïde.

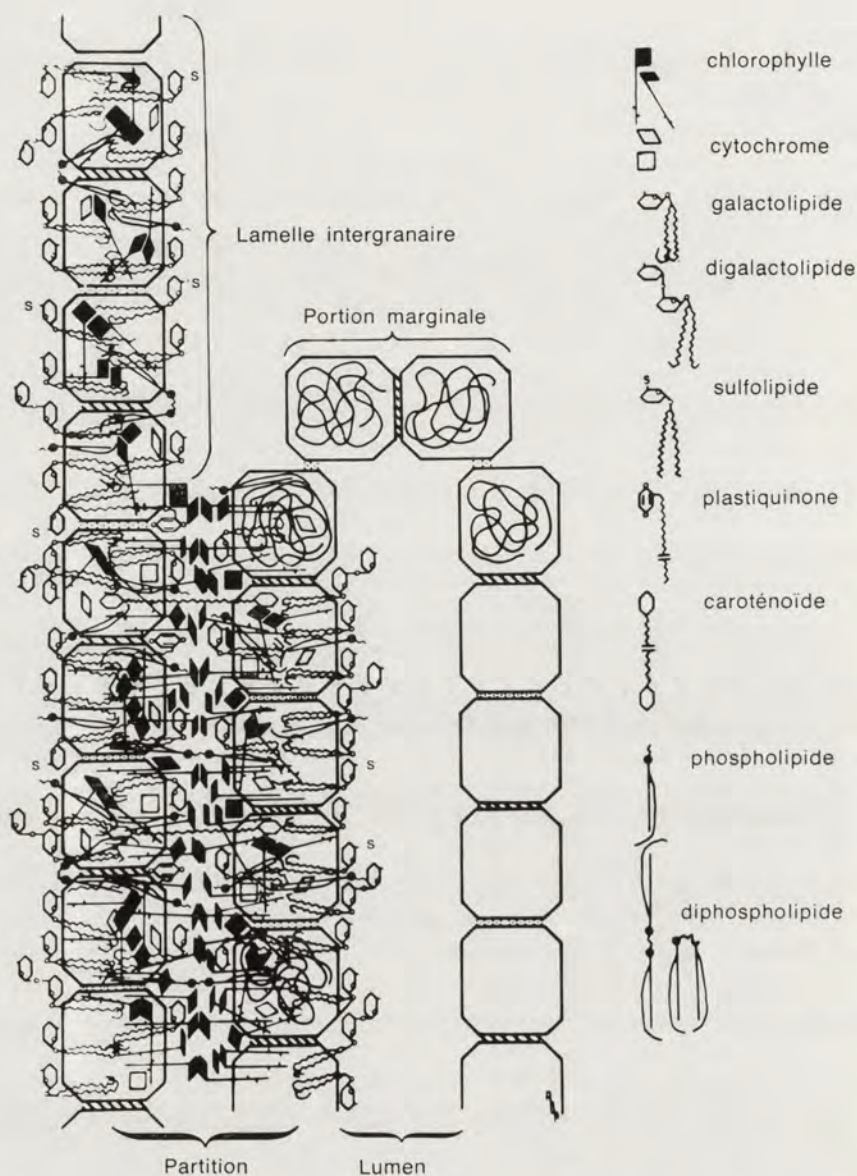


FIG. 13-3. Organisation des systèmes moléculaires intervenant dans la structure du thylakoïde (d'après Weier et al.).

B. LES CONSTITUANTS DU THYLAKOÏDE INTERVENANT DANS LA PHOTOSYNTHÈSE

Les étapes du processus de la photosynthèse sont les suivantes :

- a) une photoréaction s'accomplissant dans les quantasomes. Au cours de cette réaction, des quanta de lumière sont absorbés par le système pigmentaire et des équivalents oxydants et réducteurs sont libérés ;
- b) une phosphorylation de l'ADP en ATP (phosphorylation photosynthétique) ;
- c) une conversion de CO_2 en glucide (réduction du CO_2).

Un certain nombre de constituants des chloroplastes jouent un rôle dans le processus de transformation de l'énergie électromagnétique en énergie thermochimique, c'est-à-dire dans les étapes a) et b) de la photosynthèse.

1. Pigments

La chlorophylle existe dans les quantasomes sous la forme d'un complexe lipoprotéique associé avec divers pigments, l'ensemble de cette structure macromoléculaire accomplissant la transformation de l'énergie électromagnétique en énergie thermochimique. Toutes les chlorophylles contiennent un noyau porphyrinique semblable à celui des hèmes mais c'est le magnésium qu'on trouve dans la chlorophylle et non le fer.

Dans la chlorophylle, une longue chaîne hydrocarbonée, attachée à la structure porphyrinique, rend la molécule soluble dans les graisses.

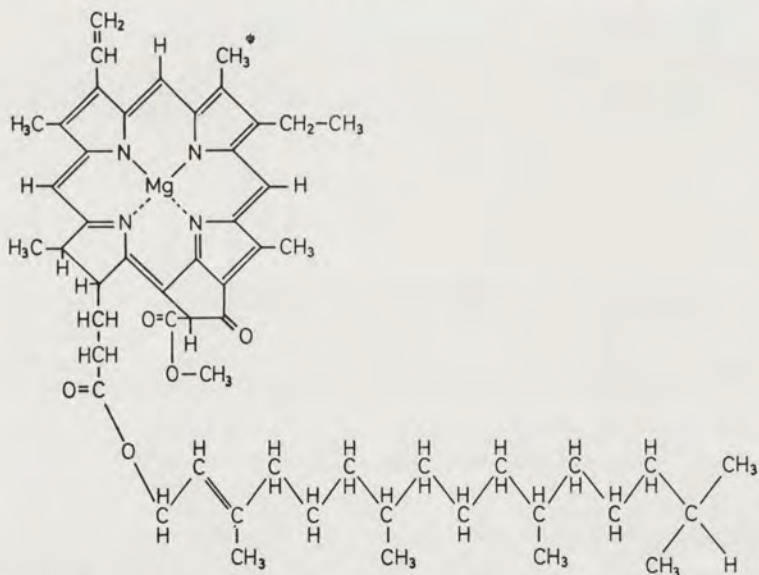


FIG. 13-4. Structure de la chlorophylle a. La chlorophylle b en diffère par le remplacement du $-\text{CH}_3^*$ par $-\text{CHO}$.

Les végétaux possèdent tous la chlorophylle a et certains ont en outre de la chlorophylle b qui ne diffère de l'autre que par un groupe aldéhydique à la place d'un méthyle (voir figure 13-4).

A côté des chlorophylles on trouve des pigments caroténoïdes et éventuellement des phycobilines. Ces pigments étendent à la région centrale du spectre solaire l'absorption de la lumière par les chloroplastes, absorption que la chlorophylle réalise au niveau des extrémités du spectre visible. En outre caroténoïdes et phycobilines protègent le système photochimique contre la photo-oxydation en milieu aérobie.

La combinaison de la mise en jeu de la chlorophylle et des caroténoïdes assure la capture de photons dans toute l'étendue du spectre solaire. Ni les caroténoïdes, ni les phycobilines n'interviennent dans le système de phosphorylation photosynthétique.

2. Cofacteurs à faible poids moléculaire

Un certain nombre de quinones ont été mises en évidence dans les chloroplastes. Elles font partie du système de la phosphorylation photosynthétique. Le FAD et une série de flavones sont également utilisés dans ce système.

3. Protéines

Un enzyme catalysant la réduction de NADP en présence de chloroplastes illuminés a été appelé réductase photosynthétique des nucléotides de pyridine (PPNR) ou ferrédoxine.

D'autre part, la réduction photochimique de NAD en présence de quantasomes réclame la présence de NADP, PPNR et d'une transhydrogénase des nucléotides de pyridine.

Les chloroplastes contiennent aussi

- a) une NADP (et NAD) : cytochrome c - réductase catalysant la réduction du cytochrome c par NADPred (ou NADred) en présence de FMN ou de FAD ;
- b) une succinodéshydrogénase, des cytochromes (et divers dérivés protéiques d'hèmes) ;
- c) une hydrogénase capable de réduire le cytochrome c au moyen de l'hydrogène moléculaire, etc.
- d) le système enzymatique de la réduction du CO_2 , lequel est une variante du système enzymatique du cycle des pentoses décrit dans le chapitre 11.

C. ÉTAPES DE LA PHOTOSYNTHÈSE

1. Etape photochimique

L'événement capital dans le processus de la photosynthèse est la capture de l'énergie lumineuse.

L'énergie quantique peut s'exprimer en calories par mole (calories par einstein). La lumière bleue possède 70 Kcal par einstein, la lumière rouge 40 Kcal par einstein.

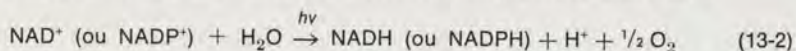
Une molécule, capable d'absorber l'énergie lumineuse, n'est sensible qu'à une longueur d'onde déterminée. L'absorption d'énergie se caractérise par une redistribution de certains électrons du système π . La molécule est alors dite excitée.

Le retour à l'état fondamental se caractérise par une émission de l'énergie absorbée sous forme de chaleur ou de lumière (fluorescence).

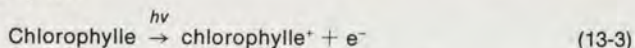
Un autre état excité se caractérise par le fait qu'un électron est non seulement placé à un niveau énergétique plus élevé mais son spin est inversé. Un quantum supplémentaire peut alors être absorbé ce qui place la molécule à un stade d'activation plus élevé.

Les informations dont on dispose actuellement indiquent que la chlorophylle doit se trouver à ce stade superactivé pour être effective dans la photosynthèse.

On conçoit actuellement l'étape photochimique comme suit :



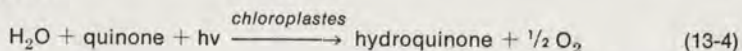
Des photons sont absorbés avec pour conséquence l'éjection d'un électron de la chlorophylle :



On peut calculer que certains électrons doivent être à un potentiel tel qu'ils soient capables de réduire NAD ($E'_0 = -0.28 \text{ V}$) alors que les radicaux libres de la chlorophylle formés au cours de la réaction (13-3) doivent avoir un potentiel suffisant pour oxyder l'eau ou les ions OH avec production de O_2 ($E'_0 = +0.8 \text{ V}$).

Ces deux processus peuvent être séparés. Dans le chloroplaste isolé et lavé, on peut faire se dérouler la réaction (13-2) en l'absence de CO_2 mais en présence d'un accepteur d'électrons (quinone, 2,6-dichlorophénol ou Fe^{+++}).

Dans ces conditions, on peut formuler la réaction (réaction de Hill) selon l'équation :



L'oxygène libéré par la photosynthèse provient bien de l'eau, comme l'ont confirmé les expériences accomplies au moyen d'eau marquée par des isotopes de l'oxygène.

2. Phosphorylation photosynthétique

Elle diffère de la phosphorylation de la chaîne respiratoire par le fait qu'elle ne met pas en jeu l'oxygène moléculaire. Toutefois elle implique une série d'oxydants et de réducteurs contenus dans le quantasome.

En effet, si l'électron provenant de l'excitation de la chlorophylle se recombinaut au radical libre de cette dernière, l'énergie lumineuse absorbée

serait perdue sous forme de chaleur. Ceci équivaudrait, dans la mitochondrie, à oxyder directement le NADred par l'oxygène moléculaire.

Selon un schéma proposé pour la bactérie sulfureuse pourpre (*Chromatium*) l'électron retourne à la chlorophylle le long d'une chaîne de transporteurs dont tous les intermédiaires, pas plus que l'ordre dans lequel ils sont disposés, ne sont entièrement connus.

On sait pourtant que la séquence implique une flavoprotéine, une quinone et au moins deux cytochromes dont l'un est très voisin du cytochrome c.

Il n'y a pas de substrat, dans le sens habituel, impliqué dans ce système puisque l'électron émis par la chlorophylle est repris par cette dernière qui joue donc le rôle d'oxydant terminal (Fig. 13-5). C'est pourquoi on parle à propos de ce processus de phosphorylation cyclique.

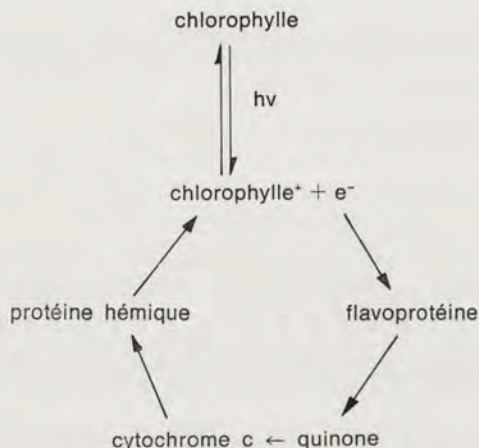


FIG. 13-5. Schéma de la phosphorylation cyclique.

L'endroit du cycle au niveau duquel l'énergie est récupérée sous forme d'ATP n'est pas connu. Il en est de même de la valeur du rapport $P : 2e^-$.

Il s'agit peut-être d'un type très primitif de photosynthèse puisqu'il permet la production d'ATP par un organisme dans des conditions anaérobies. Comme le transfert d'électrons est cyclique il est toutefois nécessaire que l'organisme dérive des équivalents de réducteur à partir de substrats exogènes.

Un autre système, mis en évidence dans la bactérie *Rhodospirillum rubrum*, illustre la notion de phosphorylation non cyclique dans laquelle l'électron de la chlorophylle est accepté par la ferrédoxine (réductase du NADP) et une flavoprotéine et sert à réduire NADP.

Le radical libre de la chlorophylle excitée accepte alors un électron provenant d'un substrat, qui dans le cas considéré peut être l'acide succi-

nique. Le transfert d'électrons du succinate à la chlorophylle activée s'accompagne d'une synthèse d'ATP (Fig. 13-6).

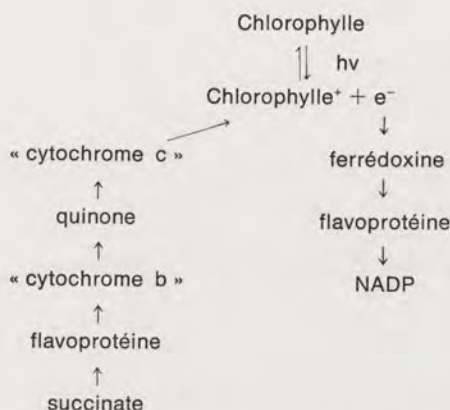
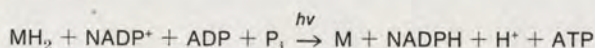


FIG. 13-6. Schéma de la phosphorylation non cyclique.

Au total l'énergie provenant de l'oxydation du succinate et l'énergie dérivée de l'absorption des photons permet la synthèse de NADP^{red} et d'ATP nécessaire à la fixation du CO₂. Le bilan des deux séquences peut donc s'écrire :



Dans le cas des plantes supérieures la production d'ATP et la réduction du NADP s'accomplissent en utilisant l'eau ou les ions OH à la place d'un substrat réducteur exogène. Le phénomène s'accompagne en outre de la libération d'oxygène. Il paraît aussi indispensable que les chloroplastes soient irradiés d'une lumière de deux longueurs d'onde différentes. La lumière rouge expulse un électron de la chlorophylle b. Cet électron est accepté par une quinone qui par l'intermédiaire de cytochromes est accepté par la chlorophylle a excitée par la lumière bleue. Au cours de ce transfert de l'ATP est synthétisé. D'autre part, le radical libre de la chlorophylle b accepte un électron des ions hydroxyles. En conséquence de l'oxygène est produit et de l'ATP est synthétisé.

L'électron éjecté par la chlorophylle a excitée est accepté par la ferrédoxine et est utilisé à la réduction du NADP (Fig. 13-7). Le NADP^{red} peut alors réduire l'acide 3-phosphoglycérique.

3. Conversion de CO₂ en glucide (réduction du CO₂)

Les expériences accomplies au moyen de CO₂ marqué par un isotope du carbone ont montré que le carbone du CO₂ utilisé dans la photosynthèse apparaît d'abord au niveau de l'acide 3-phosphoglycérique (APG).

C'est le ribulose-diphosphate (Ru-PP) qui est le précurseur immédiat de l'acide 3-phosphoglycérique. Le cycle de la photosynthèse commence

donc par une carboxylation du Ru-PP avec formation ($C_5 + C = 2 C_3$) de deux molécules d'acide phosphoglycérique (APG). A partir de l'APG, toutes les opérations du cycle de la photosynthèse ont pu être reproduites in vitro au moyen d'enzymes purifiés.

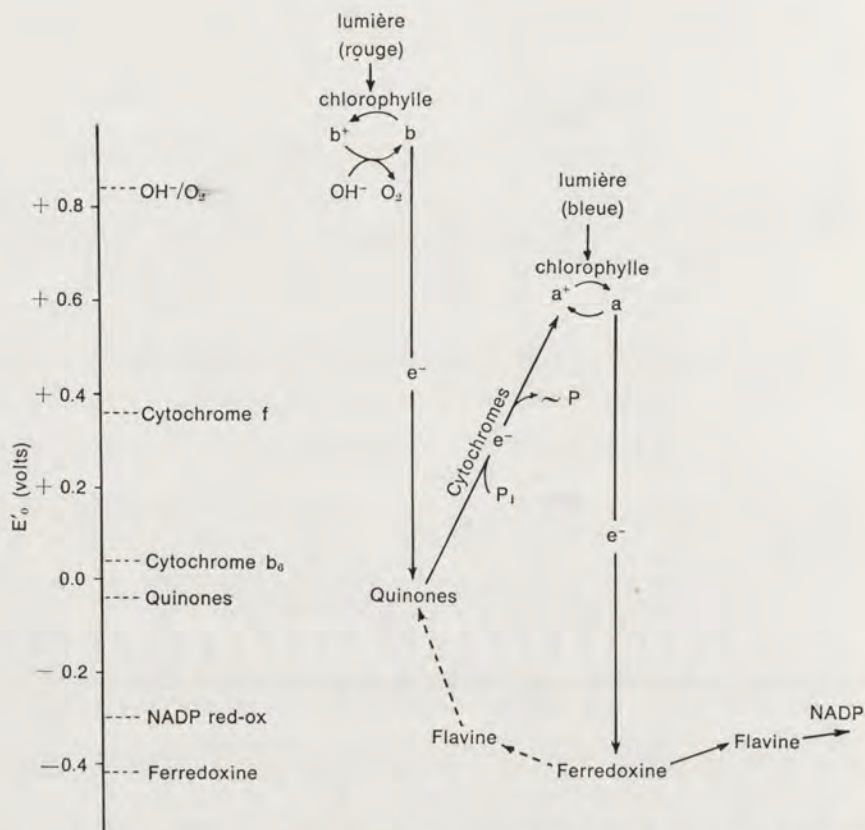


FIG. 13-7. Schéma de la phosphorylation photosynthétique dans les quantasomes des végétaux et des algues vertes. Les intermédiaires des séquences sont placés aux niveaux correspondants à leur potentiel d'oxydo-réduction standard (E'_0).

L'aldolase (E. N. 4.1.2.7) catalyse la formation de sédoheptulose-diphosphate à partir d'une molécule de tétrase-P et d'une molécule de triose-P ($C_4 + C_3 = C_7$). L'hexosediphosphatase (E. N. 3.1.3.11) transforme le sédoheptulose-PP en sédoheptulose-P qui, avec une nouvelle molécule de triose-P, donne en présence de transcétolase (E. N. 2.2.1.1) une molécule de xylulose-P ($C_7 + C_3 = 2 C_5$). L'isomérase des pentose-phosphates pousse ce mélange vers le ribulose-P (Ru-P) qui, en présence d'ATP et de phosphoribulokinase (E. N. 2.7.1.19) fournit le ribulose-PP (Ru-PP).

On a pu isoler à partir des feuilles d'épinard et des ultrasonats de l'algue verte *Chlorella* un enzyme soluble qui, en présence de bicarbonate, transforme le Ru-PP en 2 molécules d'APG. On lui donne le nom de carboxylase du ribulose-diphosphate (E. N. 4.1.1.39).

Le fait d'avoir isolé tous les instruments enzymatiques ne démontre pas que le cycle puisse fonctionner. Il exige en effet pour la réduction de l'APG en triose une molécule d'ATP et une molécule de NADPH. Arrivés au Ru-P, nous devons fournir une nouvelle molécule d'ATP pour former le Ru-PP.

Le cycle a été reconstitué complètement *in vitro* par Racker (1955), qui a donc opéré la synthèse réductive d'un ose à partir de CO_2 et d'extraits enzymatiques de végétaux. Le bilan de l'expérience de Racker s'écrit comme suit :

- (1) $3 \text{ pentose-P} + 3 \text{ ATP} \rightarrow 3 \text{ Ru-PP} + 3 \text{ ADP}$
- (2) $3 \text{ Ru-PP} + 3 \text{ CO}_2 + 3 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 6 \text{ APG}$
- (3) $6 \text{ APG} + 6 \text{ ATP} \rightarrow 6 \text{ APPG} + 6 \text{ ADP}$
- (4) $6 \text{ APPG} + 6 \text{ NADPH} + 6 \text{ H}^+ \rightarrow 6 \text{ triose-P} + 6 \text{ NADP} + 6 \text{ P}$
- (5) $4 \text{ triose-P} \rightarrow 2 \text{ HPP}$
- (6) $2 \text{ HPP} + 2 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{ HMP} + 2 \text{ P}$
- (7) $1 \text{ HMP} + 1 \text{ triose-P} \rightarrow 1 \text{ pentose-P} + 1 \text{ tétrose-P}$
- (8) $1 \text{ HMP} + 1 \text{ tétrose-P} \rightarrow 1 \text{ heptulose-P} + 1 \text{ triose-P}$
- (9) $1 \text{ heptulose-P} + 1 \text{ triose-P} \rightarrow 2 \text{ pentose-P}$

somme (1-9) $3 \text{ CO}_2 + 9 \text{ ATP} + 5 \text{ H}_2\text{O} + 6 \text{ NADPH} + 6 \text{ H}^+ \rightarrow 1 \text{ triose-P} + 9 \text{ ADP} + 6 \text{ NADP} + 8 \text{ P}$

(10) $9 \text{ H}_2\text{O} + 9 \text{ NADP} \rightarrow 9 \text{ NADPH} + 9 \text{ H}^+ + 9 \text{ O}$

(11) $3 \text{ NADPH} + 9 \text{ ADP} + 9 \text{ P} + 3 \text{ H}^+ + 3 \text{ O} \rightarrow 3 \text{ NADP} + 9 \text{ ATP} + 12 \text{ H}_2\text{O}$

somme (1-11) $3 \text{ CO}_2 + 2 \text{ H}_2\text{O} + \text{P} \rightarrow 1 \text{ triose-P} + 6 \text{ O}$

Laissons pour l'instant de côté les équations (10) et (11). Nous voyons dans la somme (1-9) que pour introduire une molécule de CO_2 dans un triose-phosphate il faut trois molécules d'ATP et quatre équivalents de réduction (4 électrons). Dans la nature, les quatre équivalents de réduction (2 NADPH) et les trois molécules d'ATP sont fournis au cours de la conversion de l'énergie électromagnétique.

Les étapes principales de la réduction du CO_2 sont résumées dans la figure 13-8.

Dans l'étape de la photosynthèse qui consiste dans la réduction du CO_2 , le cycle des pentoses (p. 286) est partiellement inversé et lié à une étape réductrice catalysée par la déshydrogénase des triose-phosphates, étape qui remplace l'oxydation catalysée par la déshydrogénase du G-6-P. D'autre part, la décarboxylation de l'acide 6-phosphogluconique est remplacée, dans le végétal en photosynthèse, par la carboxylation du Ru-PP.

IV. LA PHOTOSYNTHESE CHEZ LES BACTÉRIES POURPRES, BRUNES OU VERTES

Les Rhodobactéries constituent une collection étendue de bactéries communes dans les sols et on peut, avec Van Niel, les subdiviser en trois groupes :

1. *Chlorobactériacées*. Bactéries sulfureuses vertes ne requérant pas de facteurs de croissance organique.

2. *Thiorhodacées*. Bactéries sulfureuses pourpres ne requérant pas de facteurs de croissance organiques mais capables d'utiliser comme donneurs d'hydrogène différents composés inorganiques de soufre ou des acides organiques, et dans certains cas l'hydrogène.

3. *Athiorhodacées*. Bactéries non sulfureuses pourpres, rouges ou brunes, exigeant divers facteurs de croissance.

1. Chlorobactériacées

Elles sont anaérobies et H_2S est la substance qui réduit le radical oxydant libéré par la photolyse.

Le soufre s'accumule dans la culture sous la forme de globules réfringents.

2. Thiorhodacées

S'il est vrai qu'elles contiennent, comme les plantes et les algues vertes, de la chlorophylle et des caroténoïdes, il ne s'agit pas des mêmes espèces de ces composés organiques. D'autre part, ces pigments sont organisés en un système lamellaire très voisin de celui observé chez les algues vertes. Ils peuvent aussi être fixés dans des vésicules, limitées par une membrane, et qui portent le nom de chromatophores.

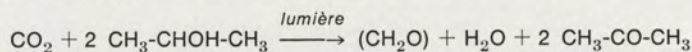
Chez les bactéries pourpres, des composés organiques ou des dérivés réduits du soufre sont nécessaires en tant que donateurs d'hydrogène au cours de la réduction du CO_2 .

La photoréaction apparaît comme étant la même que chez les plantes, et amenant comme chez elles le déroulement de la phosphorylation cyclique. Quant à la phosphorylation non cyclique, elle diffère en ce que le cytochrome prend son électron non aux (OH^-) de l'eau, mais à H_2S , au thio-sulfate, à l'alcool, au butyrate, etc. L'électron est transféré, en même temps que l'hydrogène réduit le NAD^+ en $NADH + H^+$. Si H_2S est le donneur d'hydrogène, il est décomposé en $2 H^+$ et S^- et ce dernier, donnant 2 électrons au cytochrome, devient S.

3. Athiorhodacées

Elles assimilent le CO_2 en présence de lumière, mais exigent pour cela certains composés organiques ou inorganiques. Les acides gras sont de bons substrats pour leur croissance. Une série de faits expérimentaux montrent qu'ils servent dans ce cas de donateurs d'hydrogène. Toutefois cette notion reste discutée. La situation est plus claire dans le cas de l'utilisation de l'alcool isopropylique. Ici le composé organique sert incontestablement de donneur d'hydrogène pour réduire le radical $[OH]$ et laisse l'acétone dans le milieu.

L'équation globale du phénomène est la suivante :



A CONSULTER

- ACKERMAN, E., Biophysical science. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1962.
- BASSHAM, J. A. et CALVIN, M., The path of carbon in photosynthesis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1957.
- CLAYTON, R. K., Molecular physics in photosynthesis. Blaisdell Publishing Co., New York, 1965.
- KAMEN, M. D., Primary processes in photosynthesis. Academic Press, New York, 1963.
- RACKER, E., Nature, 1955, **175**, 249.
- VON WETTSTEIN, D. J., Ultrastruct. Res., 1959, **3**, 235.
- WEIER, T. E., ENGELBRECHT, A. H. P., HARRISON, A. et RISLEY, E. B., J. Ultrastruct. Res., 1965, **13**, 92.
- Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 2 (1960), 5 (1963). Academic Press, New York.
- The interpretation of ultrastructure (Publié sous la direction de R. J. C. Harris). Academic Press, New York, 1962.
- Metabolic pathways, 2nd edit. of Chemical Pathways of metabolism (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 2. Academic Press, New York, 1961.

CHAPITRE 14

Métabolisme des acides aminés et entrée de l'azote dans les composés organiques

I. Processus généraux	372
A. Désamination	372
1. Désamination oxydative	372
a) oxydases non spécifiques	374
b) oxydases spécifiques	374
2. Désamination non oxydative	376
3. Les aminoxydases	377
a) monoaminoxidase	377
b) diaminoxidase	377
c) oxydase de la spermine	378
B. Désamidation	379
a) la glutaminase	380
b) l'asparaginase	380
C. Transamination	381
1. Définition	381
2. Spécificité	382
3. Distribution	383
4. Rôle des amides	384
5. Rôle biologique	384
D. La décarboxylation des acides aminés	386
1. Décarboxylation	386
a) décarboxylation de l'acide L-glutamique	387
b) décarboxylation de la L-histidine	387
c) décarboxylation de la L-tyrosine	387
d) décarboxylation de l'acide L-aspartique	388
e) décarboxylation du L-tryptophane	388
f) décarboxylation du 5-hydroxy-L-tryptophane	388
g) décarboxylation de l'ornithine et de la lysine	388
h) décarboxylation de la cystéine combinée	389
i) décarboxylation de la sérine estérifiée	389
j) décarboxylation de la thréonine	389
E. Décarboxylation des acides cétoniques formés par la désamination des acides aminés	389

II. Voies métaboliques suivies par les acides aminés et leurs dérivés	390
A. Acide glutamique, acide aspartique et alanine	391
B. Valine, leucine et isoleucine	392
C. Sérine et glycolle	394
D. Arginine, ornithine, proline et hydroxyproline	394
E. Glutamine	395
F. Cystine et cystéine	396
G. Lysine	397
H. Méthionine	397
I. Thréonine	398
J. Histidine	400
K. Phénylalanine et tyrosine	400
L. Tryptophane	401
M. Schéma général	403
III. Biosynthèse des acides aminés	405
A. Acides aminés non essentiels	405
1. Acide glutamique, acide aspartique et alanine	405
2. Glutamine et asparagine	405
3. Proline, hydroxyproline, ornithine et arginine	405
4. Sérine et glycolle	408
5. Cystéine et cystine	409
6. Tyrosine	411
B. Acides aminés essentiels	411
1. Méthionine, thréonine et homosérine	411
2. Valine, leucine et isoleucine	413
3. Phénylalanine et tryptophane	413
4. L'histidine et la biosynthèse du noyau imidazole	415
5. Lysine	419
IV. Biosynthèse des polyamines	419
V. Glycolle et biosynthèse des porphyrines	422

Les acides aminés qui sont libérés au cours des différentes phases de l'hydrolyse enzymatique des protéines pénètrent par des mécanismes divers dans le liquide intracellulaire.

Dans le cas des mammifères, le premier problème qui se pose est de savoir comment les acides aminés présents dans la lumière de l'intestin franchissent les barrières cellulaires pour atteindre le réseau vasculaire. Certains sont l'objet d'un transport actif (Chap. 10), d'autres pénètrent dans

la cellule par un mécanisme qui ne semble pas exiger la fourniture d'énergie métabolique. Tous, néanmoins, sont l'objet de transformations plus ou moins importantes et le deuxième problème posé est celui des voies métaboliques empruntées par les acides aminés exogènes. Signalons tout de suite qu'il s'agit d'une étude intimement liée à celle plus vaste de l'utilisation par la cellule de l'azote inorganique et des mécanismes biosynthétiques dont dispose cette dernière pour produire *de novo* certains acides aminés.

La capacité de synthétiser le squelette hydrocarboné de certains acides α -cétoniques est en effet très diversement distribuée parmi les organismes. En conséquence, les acides α -aminés correspondants ne peuvent être formés par la voie des transaminations. Ces acides aminés, puisqu'ils doivent être fournis dans le régime comme tels ou sous forme de protéines, sont appelés essentiels. (Tableau 14-1). Cette définition est toutefois actuellement élargie et inclut également les acides aminés qui ne sont pas synthétisés à une vitesse suffisante pour répondre aux besoins métaboliques de l'animal. Il est important de signaler que la notion d'essentiel ou de non essentiel ne s'applique qu'aux seuls besoins nutritifs de l'organisme et ne préjuge en rien de l'importance que les acides aminés peuvent avoir dans le métabolisme. L'acide glutamique, qui est un acide aminé dit non essentiel, joue, comme nous le verrons plus loin, un rôle important dans le métabolisme. Ce rôle est tel qu'une perte instantanée, par un organisme, de sa capacité de synthèse s'accompagnerait de troubles importants du métabolisme cellulaire, résultant du fait que l'animal ne pourrait attendre le repas suivant pour reconstituer sa réserve d'acide glutamique, chose possible en ce qui concerne les acides aminés dits essentiels.

Tableau 14-1
CLASSIFICATION DES ACIDES AMINÉS SELON LEUR EFFET SUR
LA CROISSANCE DU RAT BLANC
(d'après Rose, 1938)

Essentiels	Non essentiels
Arginine ⁽¹⁾	Alanine
Histidine	Acide aspartique
Isoleucine	Acide glutamique
Leucine	Cystine
Lysine	Glycocolle
Méthionine	Hydroxyproline
Phénylalanine	Proline
Thréonine	Sérine
Tryptophane	Tyrosine
Valine	

⁽¹⁾ L'arginine n'est pas synthétisée à une vitesse suffisante pour satisfaire les besoins d'une croissance normale.

Dans les pages ci-dessous nous allons donc envisager a) les aspects généraux du métabolisme des acides aminés, b) l'étude de leur dégradation complète, c) les différentes voies métaboliques aboutissant chez les mammifères à la synthèse des acides aminés dits non essentiels, d) la biosynthèse de ces acides aminés, appelés essentiels, chez les végétaux et les microorganismes et qui chez les mammifères ne sont pas synthétisés et

qui doivent donc être fournis par le régime alimentaire. Enfin nous examinerons le rôle des acides aminés en tant que précurseurs de certains composés azotés ainsi que la biosynthèse des polyamines.

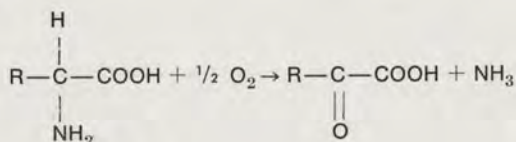
I. PROCESSUS GÉNÉRAUX

A. DÉSAMINATION

La désamination des acides aminés se fait selon deux schémas principaux, l'un impliquant une oxydation de l'acide aminé, l'autre une déshydratation de ce dernier.

1. Désamination oxydative

La désamination oxydative des acides aminés s'effectue grâce à l'intervention de nombreux systèmes enzymatiques catalysant la réaction générale suivante :



(14-1)

Selon le type de réaction on considère :

- a) les oxydases des acides L-aminés,
- b) les oxydases des acides D-aminés,
- c) les oxydases d'un acide aminé spécifique.

Les groupes définis en a et b indiquent que la spécificité des enzymes considérés est assez large.

Les oxydases des acides aminés sont classées, selon la nature de l'accepteur d'hydrogène, en deux catégories, aérobies et anaérobies. La première catégorie comprend les enzymes catalysant une réaction de désamination dans laquelle l'oxygène intervient comme accepteur final d'hydrogène, alors que la deuxième catégorie groupe les enzymes catalysant les réactions de désamination faisant intervenir un coenzyme accepteur d'hydrogène, couplé au système des cytochromes.

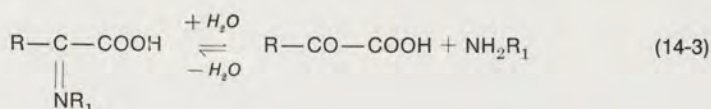
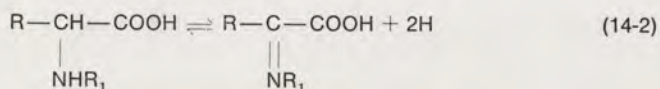
La commission des enzymes de l'Union Internationale de Biochimie recommande la terminologie suivante :

Oxygène-oxydoréductase des acides L- ou D-aminés ou plus spécifiquement d'un acide aminé.

NAD(P) - oxydoréductase des acides L- ou D-aminés ou plus spécifiquement d'un acide aminé ;

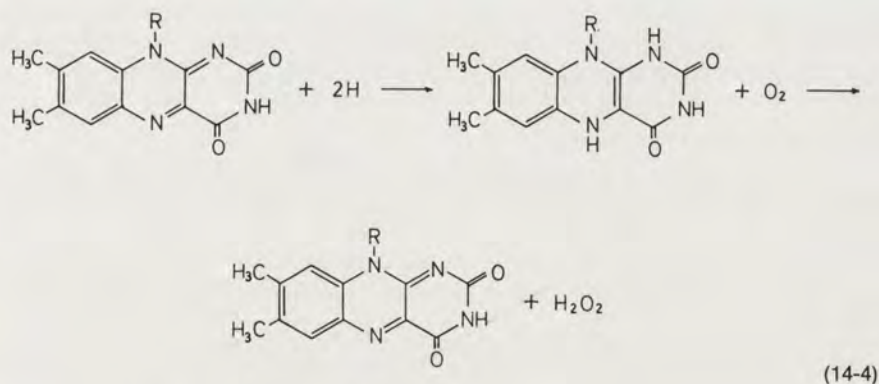
Cette nomenclature a l'avantage d'indiquer sans ambiguïté la nature de l'accepteur final d'hydrogène et, lorsque son usage sera général, elle facilitera grandement la compréhension des travaux consacrés à cette matière.

La réaction 14-1 peut être considérée comme se déroulant en deux étapes :

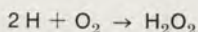


La première étape est donc une déshydrogénation, d'où le nom de déshydrogénase appliqué, dans l'ancienne nomenclature, aux enzymes conduisant à la formation d'un acide iminé qui est à son tour hydrolysé non enzymatiquement pour donner l'acide cétonique correspondant et l'ammoniaque ou un de ses dérivés. Dans les équations (14-2) et (14-3) R_1 représente un atome d'hydrogène ou un substituant, un groupe alkyle par exemple. Dans ce dernier cas une alkylamine est formée.

Les oxydases aérobies sont toutes des flavoprotéines utilisant l'oxygène comme accepteur final d'hydrogène. Le mécanisme de la réaction peut se représenter comme suit :

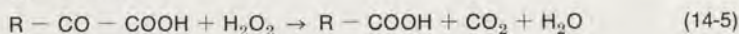


le bilan de la réaction 14-4 est évidemment

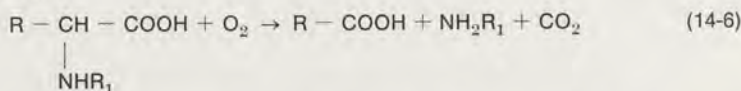


Ainsi donc, le résultat de l'activité des oxydases aérobies est la formation

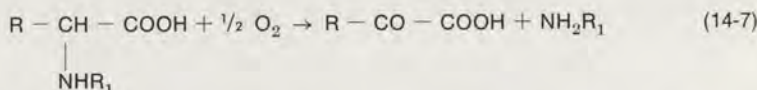
de peroxyde d'hydrogène qui, en l'absence de catalase, peut réagir avec l'acide cétonique formé :



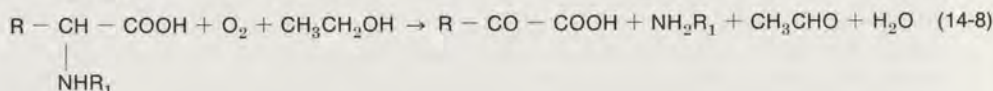
Le bilan de la désamination oxydative en l'absence de catalase s'établit donc comme suit :



En présence de catalase qui décompose le peroxyde d'hydrogène, on a :



Keilin et Hartree ont montré que l'oxygène-oxydoréductase des acides D-aminés en présence d'alcool éthylique et de catalase, conduit à l'oxydation de l'alcool en acétaldéhyde plutôt qu'à l'oxydation de l'acide α -cétonique. L'ensemble du système peut donc se représenter de la façon suivante :



où il est apparent que la quantité d'oxygène consommé correspond à la valeur théorique prévue en 14-6 sans toutefois s'accompagner de la destruction de l'acide cétonique résultant de la désamination de l'acide aminé.

Les mécanismes qui viennent d'être brièvement rappelés trouvent un support expérimental dans les résultats des nombreux auteurs qui se sont attachés à déterminer la nature des différents produits des réactions catalysées au cours de la désamination oxydative des acides aminés.

a) Oxydases non spécifiques

Des oxydases non spécifiques pour les acides L-aminés ont été mises en évidence dans le venin de nombreux serpents, dans le rein du rat, le foie de dinde et dans de nombreux microorganismes. Chez les mammifères, la distribution limitée et l'activité faible de cette catégorie d'oxydases permet de conclure qu'elles ne jouent pas un rôle important dans le métabolisme des acides aminés.

On a également mis en évidence dans le foie et le rein des vertébrés, dans l'hépatopancréas des invertébrés et dans certains microorganismes, la présence d'une oxydase des acides D-aminés dont le mécanisme d'action et le rôle biologique font actuellement l'objet de recherches détaillées.

b) Oxydases spécifiques

i) Oxygène oxydoréductase de l'acide D-glutamique

L'hépatopancréas des céphalopodes ne contient pas seulement une oxydase non spécifique des acides D-aminés, mais également une oxydase

de l'acide D-glutamique distincte de la précédente. La spécificité de cet enzyme n'est pas parfaite puisque l'acide D-aspartique est également oxydé. L'enzyme a été partiellement purifié et son K_m pour l'acide D-glutamique est de $8 \cdot 10^{-3}$ M alors qu'il est de $4.5 \cdot 10^{-3}$ M pour l'acide D-aspartique. Le groupement prosthétique est le FAD.

ii) *Oxygène oxydoréductase du glycocolle*

A partir du rein de porc, on a isolé un apoenzyme qui, après addition de FAD, oxyde en présence de catalase le glycocolle ou la sarcosine selon le schéma de l'équation (14-7).

iii) *Oxygène oxydoréductase de l'acide D-aspartique*

On trouve dans le rein et le foie de lapin un enzyme soluble dont le groupe prosthétique est le FAD et qui catalyse l'oxydation de l'acide D-aspartique. L'activité de l'enzyme est supérieure à celle de l'oxydase des acides D-aminés chez le lapin, alors que, dans le cas du rein de porc, les deux enzymes ont pratiquement la même activité. Cet enzyme manque dans le foie de rat.

iv) *NAD(P)-oxydoréductase de l'acide L-glutamique*

La déshydrogénase de l'acide L-glutamique est un enzyme largement répandu dans la nature. On le trouve dans les bactéries, les levures, les plantes et les tissus animaux. La déshydrogénase glutamique de la levure ou d'*Escherichia coli* est active en présence de NADP alors que l'enzyme des tissus végétaux ou animaux utilise le NAD. Le foie fait toutefois exception à cet égard puisque le NADP peut aussi être utilisé comme coenzyme. L'enzyme a été cristallisé à partir d'un extrait de foie de bœuf. Le poids moléculaire de l'enzyme est voisin de 1 000 000. C'est un enzyme qui est facilement dissociable en unités dont le poids moléculaire est voisin de 250 000. La dissociation s'accompagne d'une perte de l'activité catalytique vis-à-vis du glutamate, alors qu'apparaît une activité déshydrogénasique vis-à-vis de la L-alanine. L'unité de poids moléculaire de 250 000 est la forme la plus active de la déshydrogénase de l'alanine et peut être décomposée en unités plus petites dont le poids moléculaire est compris entre 17 000 et 21 000. L'activité enzymatique de ces petites unités est inconnue. La dissociation de l'enzyme est produite notamment par les stéroïdes, la dilution, certains tampons, etc. alors que l'association des unités en polymère actif est favorisée par l'ADP, certains acides aminés (L-leucine et acides aminés essentiels). Il apparaît donc que l'activité catalytique spécifique est liée à la structure quaternaire de l'enzyme, structure qui peut être modifiée dans différentes conditions expérimentales ayant peut-être une incidence biologique. Il est aussi intéressant de remarquer que l'activité enzymatique dépend étroitement de la composition ionique du milieu d'incubation. L'anion et le cation jouent un rôle important dans ce phénomène et les anions sont inhibiteurs alors que les cations sont activateurs de la réaction enzymatique. Cette observation se vérifie sur des extraits bruts de rein de mammifère, de muscle et de branchies d'écrevisse, de homard, de langouste, de poulpe, etc. et sur une préparation d'enzyme cristallisé d'origine commerciale.

La déshydrogénase glutamique est un métallo-enzyme qui contient de deux à quatre atomes-grammes de zinc par mole d'enzyme. Toutes les substances complexant le zinc seront donc des inhibiteurs de cet enzyme. Le fait que les substances réagissant avec les groupes -SH inhibent l'activité

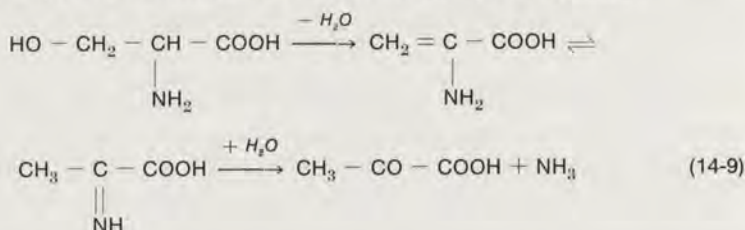
enzymatique suggère que l'enzyme possède des fonctions SH indispensables à l'activité catalytique.

L'enzyme extrait du foie de bœuf contient trois équivalents de fonction sulfhydryle par unité élémentaire correspondant à 24 500 g de protéines. Un seul équivalent est indispensable à l'activité enzymatique. La réaction catalysée par la déshydrogénase glutamique est évidemment réversible, toutefois c'est dans le sens de la formation du glutamate que la variation d'énergie libre est négative.

Il est vraisemblable que cet enzyme contrôle l'entrée de l'ammoniaque dans le pool des acides aminés plutôt que la désamination du glutamate. Cet enzyme occupe une position unique dans le métabolisme cellulaire puisqu'il constitue un lien important entre métabolisme des glucides et métabolisme des acides aminés. Récemment, diverses hypothèses de travail ont été émises ; elles attribuent à cet enzyme un rôle important dans la régulation du pool intracellulaire des acides aminés libres ainsi que dans les échanges entre ions ammonium et sodium au niveau des structures spécialisées dans le transport actif des cations.

2. Désamination non oxydative

La désamination non oxydative se caractérise par une déshydratation du substrat suivie d'une hydrolyse du produit intermédiaire avec pour résultat la formation de l'acide α -cétonique correspondant et d'ammoniaque. Les enzymes qui catalysent cette réaction sont appelés des déshydratases et nécessitent la présence de pyridoxal-5-phosphate. On a décrit des déshydratases pour la sérine (hydro-lyase de la L- ou D-sérine, E. N. 4.2.1.13 et 4.2.1.14) pour la L-homosérine (hydro-lyase de la L-homosérine, E. N. 4.2.1.15) et pour la L-thréonine (hydro-lyase de la L-thréonine, E. N. 4.2.1.16). Dans le cas de la sérine, la désamination se fait selon les étapes suivantes :

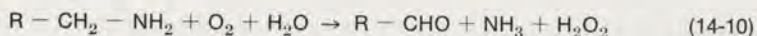


Ces déshydratases sont présentes dans les bactéries, *Neurospora crassa* et le foie. Dans le cas des bactéries et de la moisissure on a de bonnes raisons de croire qu'il y a des enzymes spécifiques pour les formes L- et D- des acides aminés considérés.

La déshydratase de la L-thréonine est un enzyme inductible dans le foie de souris ou de rat : l'injection intra-péritonéale du substrat s'accompagne d'un accroissement de l'activité enzymatique jusqu'à quatre fois la valeur contrôle. L'activité de la déshydratase de la L-sérine ne subit aucune modification ce qui est un argument supplémentaire en faveur de l'existence d'enzymes distincts pour les deux substrats.

3. Les aminoxydases

Les aminoxydases catalysent la désamination oxydative des amines selon l'équation générale :



Une molécule d'oxygène est donc absorbée pour chaque molécule de substrat oxydée. Les enzymes appartenant à ce groupe sont généralement classés selon la nature du substrat qu'ils oxydent. Les monoamines sont désaminées par la monoaminoxidase (monoamineoxygène oxydoréductase, E. N. 1.4.3.4), les diamines par la diaminoxidase (diamine : oxygène oxydoréductase, E. N. 1.4.3.6) et la spermine par l'oxydase de la spermine (spermine : oxygène oxydoréductase, E. N. 1.5.3.3).

Cette classification repose non seulement sur la spécificité du substrat mais aussi sur l'effet de certains inhibiteurs. Toutefois elle est loin d'être absolue puisque certaines diamines sont le substrat de la monoaminoxidase alors que de nombreuses monoamines sont oxydées par la diaminoxidase. La limite entre les trois classes d'enzymes est donc imprécise et beaucoup moins bien définie qu'on ne l'a cru précédemment. De plus, il y a encore de nombreuses controverses sur le point de savoir si un seul ou plusieurs enzymes sont impliqués dans l'oxydation des amines qui ont été étudiées.

a) La monoaminoxidase

Une étude de la distribution de la monoaminoxidase dans le règne animal montre que cet enzyme est présent dans les tissus de tous les vertébrés et chez la plupart des invertébrés. Le foie, le rein et l'intestin ont l'activité la plus élevée, mais on trouve des concentrations appréciables en enzyme également dans le pancréas, le cœur, les poumons, la rate, le cerveau, la thyroïde, les testicules, l'utérus, la médullaire surrénale, le thymus, le placenta, la prostate et les vésicules séminales. Par contre les globules rouges et les plasmas sanguin et séminal en sont dépourvus. Dans la plupart des tissus, l'enzyme est associé à la fraction mitochondriale, on trouve toutefois un enzyme soluble dans le foie et le rein de cobaye.

L'enzyme est inhibé par l'iproniazide (phosphate de 1-isonicotinyl-2-isopropylhydrazine), substance qui est sans effet sur la diaminoxidase. La monoaminoxidase contient vraisemblablement des groupes -SH puisqu'elle est inhibée par les substances qui oxydent cette fonction ou qui se combinent avec elle.

b) La diaminoxidase

La diaminoxidase est identique à l'histaminase comme le démontrent les travaux de Zeller et Davison. Cet enzyme est largement répandu dans la nature et est trouvé chez les animaux, les plantes et les microorganismes.

Dans le muscle et le plasma sanguin, l'activité est très basse. Toutefois, au cours de la grossesse, il y a une augmentation importante de la concentration plasmatique qui diminue rapidement dès l'expulsion du fœtus. Cette activité accrue est expliquée par la teneur élevée du placenta en cet enzyme. Dans le foie, toute l'activité est localisée dans la fraction mitochondriale, alors que dans le rein de porc, elle se trouve dans la fraction cytoplasmique.

La diaminoxydase est largement répandue dans les végétaux. Les graines n'en contiennent toutefois pas mais l'activité apparaît au cours de la germination. Chez les bactéries, l'enzyme paraît être adaptatif.

L'enzyme est inhibé par l'isoniazide (hydrazide de l'acide isonicotinique) qui est sans effet sur la monoaminoxydase. Le cyanure, le bisulfite, l'hydroxylamine, les guanidines, la thiamine, la pipérazine, sont également des inhibiteurs puissants. La streptomycine et la dihydrostreptomycine sont des inhibiteurs de l'enzyme d'origine bactérienne.

c) *L'oxydase de la spermine*

Cet enzyme se trouve dans le sérum de mouton, de bovidés, de cheval, de porc, de chèvre, des ruminants en général, mais pas dans celui de l'homme, du cobaye ou du lapin. Il désamine la spermine et la spermidine mais est sans action sur l'histamine ou le 1,4-diaminobutane qui sont des substrats typiques de la diaminoxydase. Il oxyde également d'autres amines (monoamines aliphatiques et phénylalkylamines).

L'enzyme est inhibé par le cyanure, l'hydroxylamine, la semicarbazide, etc. Sa présence chez les mammifères semble être parallèle à l'apparition du rumen.

Le rôle physiologique des aminoxydases n'est pas encore bien précisé. Le fait que les tissus conducteurs contiennent des quantités importantes d'acétylcholinestérase mais peu d'aminooxydase alors que la relation inverse existe dans l'intestin constitue pour certains une indication importante quant au rôle possible des aminoxydases (Tableau 14-2).

Tableau 14-2
COMPARAISON DE L'ACTIVITE DE LA MONOAMINOXYDASE (MO)
ET DE L'ACÉTYLCHOLINESTÉRASE (CHASE) DANS DIFFÉRENTS TISSUS HUMAINS
(d'après Davison, 1958)

Tissu	MO $\mu\text{l O}_2/\text{g/h}$	Chase $\mu\text{l CO}_2/\text{g/h}$
Cerveau		
noyau caudé	296	31 900
putamen	246	41 900
cortex	158	1 120
Cœur	590	394
Poumon	281	1 587
Muscle	146	2 965
Foie	1 080	712
Rein		
cortex	561	597
medulla	246	693

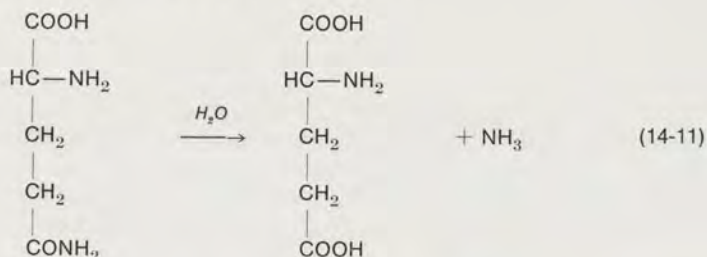
Puisque la cholinestérase contrôle la génération des potentiels bioélectriques sous la dépendance de l'acétylcholine, on a suggéré un rôle analogue pour certaines aminoxydases qui contrôlèrent le taux de noradrénaline ou de dopamine par exemple. Les deux enzymes auraient ainsi une action complémentaire, notamment au niveau de certains neurones dont l'activité électrique est sous la dépendance de certaines amines.

A ce sujet il est intéressant de remarquer que Bogdanski et Udenfriend ont montré que la sérotonine et la monoaminoxydase présentent une distribution parallèle dans le cerveau de chien et de chat.

B. DÉSAMIDATION

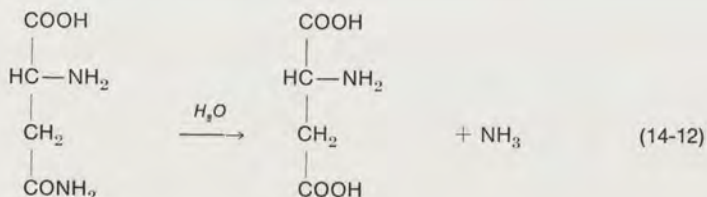
La production d'ammoniaque à partir d'amide est limitée principalement aux deux amides naturelles glutamine et asparagine.

La réaction, dans le cas de la glutamine, est



et s'accompagne d'une variation d'énergie libre de -3.4 Kcal M^{-1} .

Dans le cas de l'asparagine on a :



Un second type de désamidation, impliquant une transamination de la glutamine et de l'asparagine, a également été mis en évidence. On a en effet montré que les acides α -cétoniques activent les amidases hépatiques. Cette activation s'explique par une réaction de transamination entre l'amide et l'acide α -cétonique, suivie d'une hydrolyse de l'acide α -céto-glutamique ou α -céto-succinamique avec libération d'ammoniaque.

Les enzymes catalysant les réactions (14-11) et (14-12) sont appelés glutaminase I (amidohydrolase de la L-glutamine, E. N. 3.5.1.2) et asparaginase I (amidohydrolase de la L-asparagine, E. N. 3.5.1.1) et sont donc distincts des enzymes activés par les acides α -cétoniques qui sont appelés glutaminase II (L-glutamine-acide 2-cétonique aminotransférase, E. N. 2.6.1.15) et asparaginase II (L-asparagine acide 2-cétonique aminotransférase, E. N. 2.6.1.14). Les appellations de glutaminase II et d'asparaginase II doivent être abandonnées, au profit du nom systématique recommandé par la Commission des Enzymes. Glutaminase et asparaginase, noms

recommandés, remplacent désormais les dénominations de glutaminase I et asparaginase I.

a) *La glutaminase*

La glutaminase est présente dans les tissus animaux. Le placenta humain a une activité voisine de celle du rein. L'activité est associée à la fraction mitochondriale du foie et du rein. La purification de cet enzyme a été entreprise et le pH optimum trouvé est voisin de 8. L'activité de l'enzyme décroît rapidement et irréversiblement pour des valeurs du pH inférieures à 7 ou supérieures à 8.5. Le K_m de la glutaminase est de $5 \cdot 10^{-3}$ M. Une glutaminase d'origine bactérienne a été partiellement purifiée à partir de cultures de *Clostridium welchii* et de *E. coli*. La glutaminase d'origine bactérienne a un pH voisin de 5, ce qui la distingue de l'enzyme extrait des tissus de mammifères.

La spécificité de cet enzyme est très grande et son activité est considérablement accrue dans les tissus de mammifères en présence d'anions divalents tels le phosphate, le sulfate et l'arséniate. Ces résultats ont été confirmés sur une préparation enzymatique purifiée provenant du rein. Les anions monovalents sont sans effet sur la glutaminase d'origine rénale et sont, par contre, inhibiteurs en présence de phosphate.

En considérant les effets des ions inorganiques sur l'activité, non seulement de la glutaminase, mais aussi de la déshydrogénase de l'acide L-glutamique, on peut supposer que le pool intracellulaire des acides aminés et des ions ammonium est directement en rapport avec la composition ionique du liquide intracellulaire.

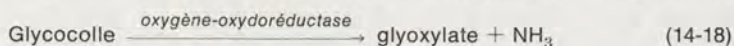
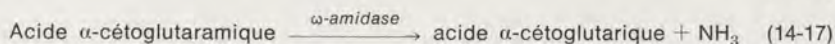
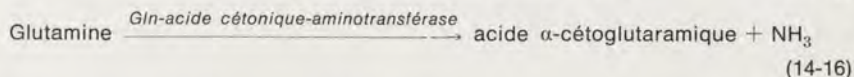
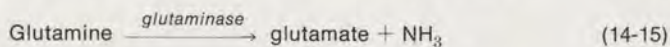
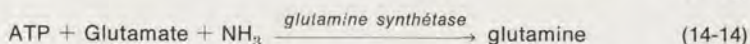
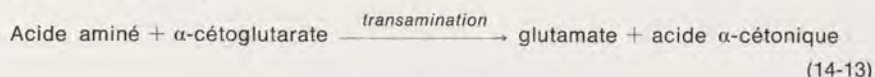
b) *L'asparaginase*

Cet enzyme est largement répandu dans les micro-organismes, les plantes et les tissus animaux. Tout comme la glutaminase il est très spécifique. L'enzyme présent dans les extraits de tissus de rat n'est pas stimulé par l'anion phosphate.

De l'exposé qui précède, il ressort qu'un grand nombre d'enzymes catalysent la désamination et la désamidation d'acides aminés, d'amines et d'amides. En conséquence, ces substances sont débarrassées de leur azote sous forme d'ammoniaque, qui entre alors dans le pool intracellulaire de cette espèce moléculaire. On a suggéré que la désamination oxydative des acides aminés constituait l'étape initiale du catabolisme des acides L-aminés intracellulaires.

Il faut toutefois remarquer que les oxydases non spécifiques des acides L-aminés n'ont pas une activité suffisante pour justifier le bien-fondé de cette hypothèse. D'autre part, mis à part le cas unique de la déshydrogénase glutamique, on ne connaît pas d'enzyme existant en concentration suffisante dans les cellules et qui soit hautement spécifique d'autres acides aminés. C'est pourquoi Braunstein a proposé un schéma dans lequel le catabolisme des acides aminés se fait par une transamination préalable sur l' α -cétooglutarate (voir p. 381) avec formation de glutamate qui serait alors oxydé en présence de NAD en α -cétooglutarate avec production d'ammoniaque. Nous avons signalé plus haut que du point de vue thermodynamique, cette dernière réaction est favorable dans le sens de la synthèse

de glutamate. Le problème est donc de savoir si les schémas suivants ne devraient pas être considérés comme plus probables pour expliquer la production de NH_3 .

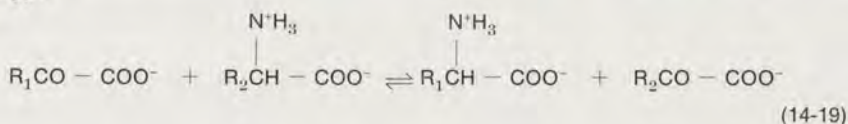


Les organes qui sont spécialisés dans la production et l'excrétion d'ammoniaque (branchie de certains poissons, rein, etc.) contiennent les enzymes intervenant dans les réactions (14-13) à (14-18). Il est donc raisonnable de supposer que l'ammoniaque produite est le résultat de l'activité des enzymes responsables des désaminations et désamidations décrites ci-dessus.

C. TRANSAMINATION

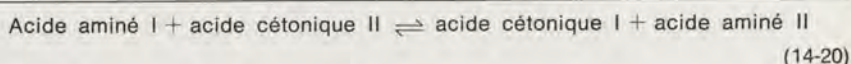
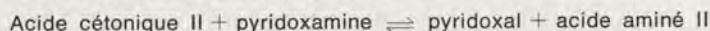
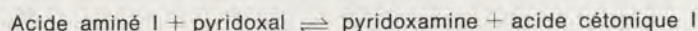
1. Définition

La réaction de transamination peut se caractériser par une équation du type



Il s'agit donc du transfert d'un groupe aminé d'un acide aminé, sur un acide cétonique sans formation intermédiaire d'ammoniac. Les ions métalliques catalysent la réaction en solution aqueuse, mais ils ne sont toutefois pas absolument indispensables. Cette catalyse non-enzymatique a été étudiée très en détail et a permis de proposer un mécanisme qui est actuellement considéré comme applicable à la réaction catalysée enzymatiquement. Les enzymes catalysant cette réaction sont appelés transaminases ou aminotransférases et ont été décrits pour la première fois par Braunstein et Kritzmann (1937). Le mécanisme de la catalyse enzymatique est relativement bien connu. Il attribue à la vitamine B_6 le rôle de coenzyme. C'est Schlenk et Snell (1945) qui trouvèrent chez des rats déficients en vitamine B_6 une diminution importante de la transamination du glutamate sur l'oxaloacétate.

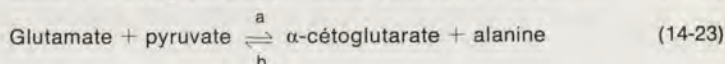
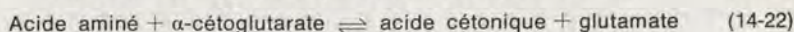
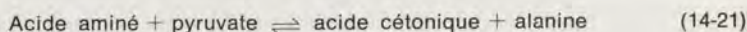
Dans ces expériences, l'activité transaminasique reprend la valeur normale par addition au régime, de pyridoxal et d'ATP. Ces résultats, associés au fait que le pyridoxal et la pyridoxamine sont des substances naturelles, ont amené Snell à envisager leur participation directe dans la transamination enzymatique. Le schéma de l'équation (14-20) a été proposé sur la base de ces résultats et en considérant les observations démontrant la présence de pyridoxal et de pyridoxamine dans les hydrolysats de transaminases purifiées



2. Spécificité

De très nombreuses réactions de transamination ont été décrites. Pourtant, le nombre d'aminotransférases purifiées reste limité. C'est pourquoi il n'est pas toujours facile d'émettre une opinion quant à la spécificité d'un système enzymatique pour un substrat donné.

Dans des extraits bruts de cellules non soumis à la dialyse, on observe le couplage de différentes réactions de transamination. Ces réactions complexes peuvent d'ailleurs induire en erreur et laisser à penser qu'une aminotransférase spécifique existe. Considérons par exemple les trois réactions suivantes :



En présence d' α -cétoglutarate ou de glutamate en concentration catalytique, l'équation (14-22) peut être couplée à l'équation (14-23 a) dont le résultat net est identique à celui de l'équation (14-21), donnant ainsi à tort l'impression de l'existence d'une transaminase pyruvique.

Dans les extraits de cœur de porc, la transamination de l'aspartate au pyruvate procède par un couplage analogue à celui des équations (14-22) et (14-23).

En présence de traces de pyruvate ou d'alanine, l'équation (14-21) peut être couplée à l'équation (14-23b) pour donner une transamination dont le résultat net est identique à l'équation (14-22).

Dans tous les cas où les aminotransférases ont été purifiées, on a en effet observé une spécificité très grande vis-à-vis d'un substrat donné. C'est le cas notamment pour la glutamate-oxaloacétate-aminotransférase, la glutamate-pyruvate-aminotransférase et la tyrosine- α -cétoglutarate-aminotransférase. Des résultats obtenus au cours des premières études effectuées sur les aminotransférases, on a conclu que seuls les acides L- α -aminés et les acides α -cétoniques pouvaient être utilisés comme substrats, les travaux plus récents ont permis de démontrer qu'il n'en est rien et que les amines, de même que les aldéhydes interviennent dans les transaminations.

Les formes D- de certains acides α -aminés, tels la phénylalanine, l'isoleucine et la méthionine, sont inactifs comme donneurs de NH_3 dans les transaminations impliquant le pyruvate ou l' α -cétoglutarate, lorsqu'on utilise des extraits de foie ou de rein de rat. Par contre, certains microorganismes possèdent des enzymes catalysant le transfert du groupe NH_3 provenant d'acides D-aminés.

3. Distribution

Les aminotransférases sont présentes dans tous les systèmes biologiques étudiés et dans les cellules animales, chaque enzyme paraît être très spécifique pour un substrat donné. En outre, chaque cellule ou tissu semble avoir une concentration propre en un enzyme donné (Tableaux 14-3 et 14-4).

Tableau 14-3

GLUTAMATE-OXALOACÉTATE TRANSAMINASE

Activité des différents tissus et microorganismes exprimée en μM
de substrat transaminé par mg N de préparation enzymatique
et par heure

(d'après Cohen, 1955)

<i>E. coli</i>	39,7
<i>A. vinelandii</i>	70,5
<i>Cl. welchii</i>	52,3
germe d'avoine (de 96 h)	252,0
pomme de terre	
racine	146,0
tige	102,0
feuille	29,0
Rat	
cerveau	125,0
foie	98,2
rein	78,2
cœur	148,5

Tableau 14-4

VITESSE DE TRANSAMINATION SUR LE PYRUVATE DANS DES EXTRAITS DE FOIE
COMPARAISON ENTRE DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES

Résultats exprimés en μM d'alanine formées par g de poids frais et par heure

(d'après Rowsell, 1962)

Donneur de NH_3	Souris	Taupe	Hamster	Rat
L-leucine	128	15	27	16
L-phénylalanine	136	37	37	21
L-méthionine	—	43	38	13
DL-norleucine	120	22	29	15
L-histidine	62	6	16	8,5
L-tyrosine	23	8	8	1,7

La transamination sur l' α -cétoglutarate s'effectue plus généralement à partir de divers acides α -aminés et semble constituer un système biochimique fondamental commun à la plupart des cellules. Il a été mis en évi-

dence dans le foie, le rein, le cœur, le cerveau et le muscle strié de divers vertébrés et invertébrés. Si l' α -cétoglutarate est l'acide cétonique constituant l'accepteur d'ammoniaque le plus généralement répandu, la glutamate-oxaloacétate-aminotransférase est l'enzyme qui paraît faire partie de l'arsenal biochimique de nombreux types cellulaires (Tableau 14-3).

4. Rôle des amides

Il y a quelques années, Greenstein et Carter ont montré que le pyruvate constituait un excellent activateur de la désamination de la glutamine mise en présence d'extrait de foie de rat. Ce phénomène, qui a retenu l'attention de plusieurs chercheurs, résulte de l'existence d'une aminotransférase associée à la désamination de la glutamine avec transfert du groupe NH_2 sur le pyruvate. L'étude détaillée de la réaction a permis de montrer que ce transfert de groupe n'est pas la conséquence d'une hydrolyse préalable de la glutamine en glutamate et NH_3 . La réaction asparagine-acide α -cétonique-aminotransférase a également été mise en évidence dans le foie et dans le rein. Cette réaction étant réversible, un nombre considérable d'acides aminés peuvent donc être à l'origine de la synthèse d'asparagine.

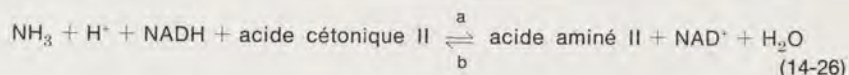
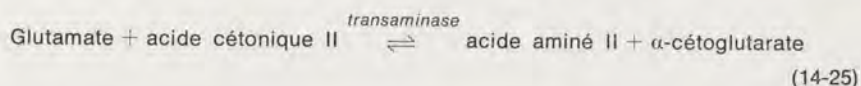
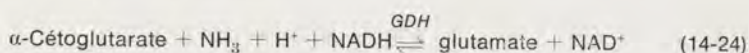
5. Rôle biologique

Des quelques résultats qui viennent d'être rappelés, il apparaît que selon le type de cellule considéré, les aminotransférases mises en évidence peuvent varier non seulement quant à la nature de la réaction chimique catalysée mais aussi quant à la concentration. Il s'agit donc de caractères biochimiques qui sont spécifiques des différenciations zoologique et cellulaire. Ces caractères sont le reflet d'aspects particuliers du métabolisme cellulaire qui ne sont pas encore élucidés mais dont la compréhension nous permettra d'aborder sur le plan moléculaire, l'étude de nombreuses fonctions dont les principales sont l'osmorégulation et le transport actif des ions inorganiques.

Les réactions de transamination sont en effet intimement associées au métabolisme des acides aminés tant dans la phase anabolique que dans la phase catabolique. En association avec d'autres systèmes enzymatiques elles contrôlent non seulement le pool des acides aminés libres intracellulaires mais aussi jouent un rôle central dans le métabolisme de l'azote.

En ce qui concerne la synthèse des acides aminés, on admet généralement que l'entrée de l'azote dans ce cycle métabolique se fait presque exclusivement par la voie de la synthèse des acides aminés correspondant aux trois acides cétoniques intervenant dans le cycle de Krebs. Ces acides cétoniques représentent donc les principaux métabolites de liaison intervenant au sein des cellules dans les transformations réversibles de molécules non azotées et de divers composés aminés. Ils représentent le squelette hydrocarboné des trois acides aminés, glutamate, aspartate et alanine, dont la synthèse s'effectue en premier lieu à partir d'azote inorganique. La vitesse de synthèse est d'ailleurs différente pour les trois acides aminés considérés et c'est en général le glutamate qui est synthétisé en premier lieu. Par le jeu successif de différentes aminotransférases spécifiques, on aboutit, à partir de glutamate, à la synthèse des autres acides aminés. Chez certaines bactéries, c'est à l'aspartate ou à l'alanine qu'est dévolu ce rôle.

L'entrée de l'azote dans le pool des acides aminés peut donc être schématisé de la façon suivante :



La réaction (14-26a) est une transréamination alors que (14-26b) est une transdésamination.

Ce schéma s'applique également à la synthèse des acides aminés dits essentiels comme le montrent les expériences de Wood et Cooley réalisées sur des rats en croissance. En l'absence de leucine, isoleucine, valine, phénylalanine et méthionine dans un régime contenant d'une part les acides cétoniques correspondant aux acides aminés déficients et d'autre part une quantité équivalente d'azote sous forme de glycolle et 0.2 % d'aspartate, ces auteurs n'ont pas pu mettre en évidence une modification de la courbe de croissance. Ces résultats semblent donc indiquer la présence d'aminotransférases spécifiques conduisant à la synthèse des acides aminés dits essentiels. Des observations analogues ont été faites dans le cas des micro-organismes.

Outre la désamination oxydative qui paraît ne jouer qu'un rôle peu important, dans le foie des mammifères tout au moins, le catabolisme des acides aminés s'opère par la voie des transaminations pour aboutir à la glutamine qui est alors hydrolysée en glutamate et ammoniacque. On sait depuis longtemps que le foie des mammifères possède des systèmes enzymatiques capables de synthétiser l'urée à partir de l'ammoniacque et d'acides aminés. En ce qui concerne les acides aminés, on a toujours postulé la nécessité d'une désamination préalable. C'est pourquoi on a considéré qu'en dernière analyse c'est l'ammoniacque qui constitue la source unique d'azote dans l'uréogénèse.

On sait aujourd'hui que si l'ammoniacque est utilisée pour la transformation de l'ornithine en citrulline, la source du deuxième atome d'azote est l'aspartate dont la transamination aboutit à la synthèse d'arginine.

Un nombre considérable de L- et D-aminoacides sont des donneurs effectifs d'azote pour la conversion de la citrulline en arginine. Toutefois les acides aminés intervenant comme donneurs de NH_3 sont inclus dans des réactions de transamination sur l'oxaloacétate, avec formation d'acide aspartique qui intervient donc seul dans la formation d'urée à partir de citrulline.

Comme nous venons de le montrer, les réactions de transamination jouent un rôle important dans le métabolisme cellulaire. Elles sont intimement associées au catabolisme et à l'anabolisme des acides aminés et constituent ainsi le lien entre le métabolisme des glucides et celui des protéines.

Le rôle central que les aminotransférases assument dans le métabolisme de l'azote en général et plus particulièrement dans la synthèse de l'urée, nous amène à conclure que de nombreuses fonctions cellulaires, encore très peu explorées sous cet angle, trouveront leur explication biochimique à l'échelle des transferts de groupes catalysés par les aminotransférases.

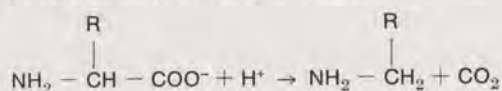
Couplé à l'activité de la déshydrogénase de l'acide L-glutamique, il est apparent que le système des transaminases joue un rôle essentiel dans le contrôle du pool des acides aminés libres qui non seulement alimente la synthèse des protéines mais intervient dans la régulation du volume cellulaire.

Indirectement, les réactions de transaminations sont aussi impliquées dans la biogenèse des bases puriques et pyrimidiques des porphyrines, des flavines, des ptéridines et des cobalamines.

Signalons enfin que la réaction de transamination trouve une application pratique dans les méthodes de diagnostic. Cette dernière application est née de l'observation selon laquelle la concentration du sérum humain en glutamate-oxaloacétate-aminotransférase est augmentée significativement dans certaines maladies du foie et dans l'infarctisme du myocarde.

D. LA DÉCARBOXYLATION DES ACIDES AMINÉS

En présence de décarboxylases, les acides aminés peuvent fournir du CO_2 et une amine selon la réaction générale :



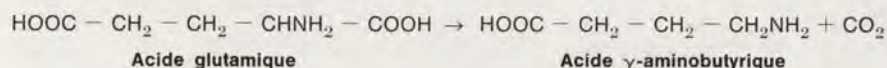
qui porte le nom de *décarboxylation*.

L'équilibre de la réaction est très en faveur de la formation de l'amine, mais néanmoins, dans le cas de la décarboxylase de l'acide L-glutamique, la réversibilité de la réaction a été démontrée. Il a de plus été établi que le proton intervenant dans la réaction de décarboxylation est celui qui est restitué au milieu dans la réaction de carboxylation de l'amine.

Les décarboxylases ont comme coenzyme le phosphate de pyridoxal qui agit selon le mécanisme décrit p. 177. On connaît une série de décarboxylases spécifiques, chacune pour la forme L- d'un acide aminé déterminé. Certaines ont été isolées de tissus animaux, comme le foie et le rein, mais la plupart ont été préparées à partir de microorganismes, dans lesquels elles se forment si le substrat de leur spécificité est présent dans le milieu de culture. Chez les microorganismes, ces décarboxylases sont donc des enzymes adaptatifs. Les amines produites par la décarboxylation des acides aminés (Tableau 14-5) sont souvent douées de propriétés particulières leur conférant un rôle important dans le métabolisme cellulaire. Il s'agit de substances, parfois appelées *amines biogènes* (Guggenheim) qui sont capables de modifier certaines fonctions cellulaires ou qui interviennent comme précurseurs de certaines hormones ou encore comme constituants de coenzymes.

Voici quelques exemples illustrant en outre les voies métaboliques suivies par certains produits de l'activité des décarboxylases.

a) La décarboxylase de l'acide L-glutamique (L-glutamate 1-carboxylase) est un enzyme présent dans le cerveau et dont l'activité, conduisant à la formation d'acide γ -aminobutyrique,



semble indispensable au métabolisme normal de certains neurones dits inhibiteurs. C'est un enzyme nécessitant du phosphate de pyridoxal. La carence de ce coenzyme ou l'administration d'isonicotinylhydrazide⁽¹⁾, qui forme un complexe inactif (hydrazone) avec le pyridoxal ou son ester phosphoré, conduit à une réduction de l'activité de la décarboxylase de l'acide L-glutamique avec pour conséquence un état convulsif. On peut remédier à cet état en administrant de la vitamine B₆. L'acide γ -aminobutyrique ne paraît pas toujours être efficace, peut-être en raison de sa faible pénétration dans les cellules du système nerveux central. L'enzyme est également présent chez les bactéries, mais son rôle dans le métabolisme est obscur.

b) La décarboxylase de l'histidine (L-histidine carboxy-lyase) catalyse, en présence de phosphate de pyridoxal, la formation d'histamine à partir de L-histidine. On la trouve dans de nombreux tissus riches en histamine (poumons, foie, muscle, épithélium gastrique) ainsi que dans les mastocytes.

Tableau 14-5

AMINES RESULTANT DE LA DECARBOXYLATION DES DIFFERENTS ACIDES AMINES

acide aminé	amine	acide aminé	amine
L-lysine	cadavérine	L-cystéine	cystéamine
L-arginine	agmatine	ac. L-glutamique	ac. γ -amino-butyrique
L-histidine	histamine	ac. L-aspartique	L-alanine
L-ornithine	putrescine		β -alanine
L-tyrosine	tyramine	L-tryptophane	β -indoléthylamine
L-phénylalanine	phényléthylamine	ac. L-cystéique	taurine
L-thréonine	propanolamine	5-hydroxytryptophane	sérotonine

L'histamine est un vasodilatateur puissant, qui stimule la sécrétion d'acide chlorhydrique et de pepsine par la muqueuse gastrique.

c) Une décarboxylase de la L-tyrosine (L-tyrosine carboxy-lyase) est présente dans le foie et dans de nombreux microorganismes. Son activité a pour résultat la formation de tyramine dont le rôle n'est pas connu (contraction de l'utérus ?). L'hydroxylation de la tyrosine (catalysée par l'oxydase de l'*o*-diphénol : oxygène oxydoréductase) conduit à la formation de

(1) Cette substance appartient à la catégorie des bactériostatiques antituberculeux (isoniazide). Son administration en médecine humaine doit toujours être accompagnée de la prise de vitamines du groupe B.

3,4-dihydroxy-L-phénylalanine (Dopa), qui en présence de la décarboxylase de la Dopa (3,4-dihydroxy-L-phénylalanine carboxy-lyase) donne de la dihydroxyphényléthylamine ou *o*-hydroxytyramine, un intermédiaire dans la formation de la mélanine. La décarboxylase de la Dopa est présente dans le rein, la médullaire surrénale, les ganglions sympathiques et les nerfs.

L'administration d'hydroxytyramine à l'homme ou au rat s'accompagne de l'excrétion dans les urines d'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique, de 3,4-dihydroxyphényléthanol et de leurs dérivés méthylés, l'acide homovanillique et le 3-méthoxy-4-hydroxy-phényléthanol.

La Dopa est un précurseur de la norépinéphrine, de l'épinéphrine et de la mélanine.

d) La décarboxylation de l'acide L-aspartique peut porter sur l'une des deux fonctions carboxyles, 1 ou 4, avec comme conséquence la production soit de β -alanine (L-aspartate 1-carboxy-lyase) soit de L-alanine (L-aspartate 4-carboxy-lyase). La présence des enzymes responsables de ces décarboxylations a été signalée chez les bactéries. Tout récemment néanmoins, on les a mis en évidence dans le muscle de crustacé (Gilles et Schoffeniels).

La β -alanine, que l'on trouve dans les tissus et dans le plasma, est un constituant de la carnosine et de l'ansérine des muscles, ainsi que de l'acide pantothénique intervenant dans la structure du CoA. Outre la possibilité, chez les organismes pluricellulaires, d'une distribution plus large (la décarboxylase-1 de l'acide aspartique, pouvant expliquer sa biosynthèse) la β -alanine est aussi un produit de la dégradation des pyrimidines. Elle intervient dans des réactions de transamination avec production de semialdéhyde malonique.

e) La décarboxylation du L-tryptophane a pour résultat la formation de tryptamine dont le rôle biologique n'est pas connu. Toutefois en présence d'aminooxydase, on obtient un aldéhyde qui est alors oxydé enzymatiquement par une aldéhydroxydase en acide indolacétique. C'est un constituant normal de l'urine. Une autre voie aboutissant à la formation du même produit est celle de la décarboxylation oxydative de l'acide indolpyruvique, résultat de la transamination du tryptophane.

L'intérêt de l'acide indolacétique est qu'il s'agit d'une hormone végétale (auxine).

f) Le 5-hydroxy-L-tryptophane résultant de l'hydroxylation du L-tryptophane, est l'objet d'une décarboxylation catalysée enzymatiquement (5-hydroxy-L-tryptophane carboxy-lyase) aboutissant à la formation de 5-hydroxytryptamine (sérotonine). Celle-ci est un vasoconstricteur que l'on trouve dans le cerveau, l'intestin, les plaquettes et les mastocytes. C'est également un constituant des venins d'hyménoptères (guêpes, abeilles, etc.) et de batraciens (crapauds). Les dérivés N-méthylés de la sérotonine, par exemple la bufoténine, se rencontrent chez les batraciens. Ces dérivés méthylés agissent sur le système nerveux central des mammifères.

g) La décarboxylation de l'ornithine et de la lysine a pour résultat la formation de putrescine et de cadavérine. La putrescine et la cadavérine existent dans les ribosomes. C'est pourquoi l'étude de ces amines trouve actuellement un regain d'intérêt. Leur rôle est toutefois inconnu.

h) La décarboxylation de la cystéine en cystéamine ne semble pas s'effectuer sur la molécule à l'état libre. Dans la synthèse du coenzyme A, l'acide pantothénique forme, avec la cystéine, une amide qui est alors décarboxylée pour donner la pantéthéine et du CO_2 .

i) Il est en de même, dans le cas de la sérine, qui n'est décarboxylée que lorsqu'elle est estérifiée comme dans le cas de la phosphatidylsérine. Le résultat est la formation de phosphatidyléthanolamine.

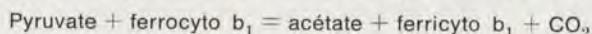
j) La propanolamine intervenant dans la structure de la vitamine B_{12} provient de la décarboxylation de la thréonine.

E. DÉCARBOXYLATION DES ACIDES CÉTONIQUES FORMÉS PAR LA DÉSAMINATION DES ACIDES AMINÉS.

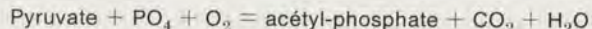
Les acides cétoniques formés par l'enlèvement de la fonction NH_2 suivent des voies métaboliques diverses. Une des premières phases importantes de l'entrée des acides cétoniques dans le métabolisme est la décarboxylation. Cette réaction est catalysée par des carboxy-lyases des acides α -cétoniques et aboutit à la formation de l'aldéhyde correspondant et de CO_2 . Ces enzymes ne sont actifs qu'en présence de pyrophosphate de thiamine.

Les acides cétoniques correspondant à l'alanine, l'isoleucine, la leucine et la valine peuvent aussi être l'objet d'une oxydation s'accompagnant d'une décarboxylation.

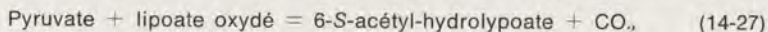
Dans ces conditions, l'accepteur peut être, soit le cytochrome b_1 , l'oxygène ou le lipoate, et le coenzyme le phosphate ou le pyrophosphate de thiamine. Nous pouvons illustrer ces notions en prenant comme exemple le cas de l'alanine. Après perte du groupement NH_2 par transamination ou désamination, l'acide α -cétonique formé, en l'occurrence l'acide pyruvique, peut être décarboxylé selon les schémas suivants :



Cette réaction est catalysée par la déshydrogénase pyruvique (pyruvate : ferrocytochrome b_1 oxydo-réductase) et nécessite la présence de pyrophosphate de thiamine.



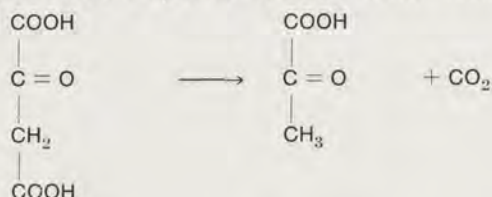
L'enzyme catalysant cette réaction est l'oxydase pyruvique (pyruvate : oxygène oxydoréductase) et le coenzyme, le phosphate de thiamine.



Cette réaction nécessite du pyrophosphate de thiamine et est catalysée par une déshydrogénase pyruvique (pyruvate : lipoate oxydoréductase).

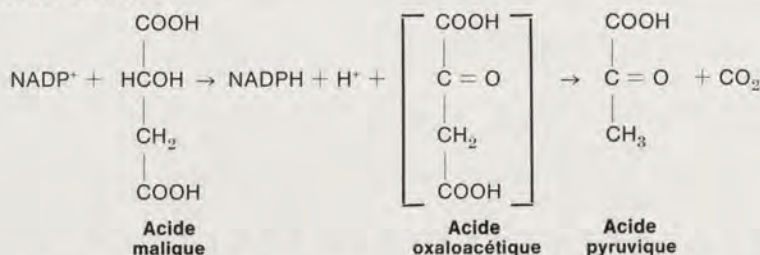
Une réaction analogue à (14-27) se fait à partir d' α -cétoglutarate comme substrat. Elle est catalysée par la déshydrogénase de l'acide α -cétoglutarique (2-cétoglutarate : lipoate oxydoréductase) et aboutit à la production de 6-S-succinyl-hydrolypoate et de CO_2 .

L'oxaloacétate est décarboxylé en pyruvate en présence de la décarboxylase de l'acide oxaloacétique (oxaloacétate carboxy-lyase) et le pyruvate formé peut alors emprunter diverses voies métaboliques.



L'oxydation d'un β -hydroxyacide avec décarboxylation de l'acide β -cétonique formé a déjà été décrite plus haut dans le cas du passage de l'acide isocitrique à l'acide oxalosuccinique puis à l'acide α -céto-glutarique dans le cycle des acides tricarboxyliques.

Un autre enzyme du même genre a été découvert par Ochoa dans les tissus animaux : c'est ce qu'on appelle « l'enzyme malique » catalysant l'oxydation de l'acide malique en acide pyruvique et CO_2 (L-malate : NADP oxydoréductase)



La constante d'équilibre est en faveur de la production de pyruvate, mais la réaction inverse se déroule si le NADP formé est constamment éliminé. L'acide oxaloacétique est représenté entre crochets parce qu'il n'apparaît pas sous forme libre dans la réaction. Toutefois il est décarboxylé si on le soumet à l'action de l'enzyme, lequel doit être distingué de deux autres malicodéshydrogénases ayant pour coenzyme le NAD, dont l'une décarboxyle et dont l'autre ne décarboxyle pas l'acide oxaloacétique (L-malate : NAD oxydoréductase, 1.1.1.38 et 1.1.1.39 respectivement).

L'intérêt des réactions de décarboxylation qui viennent d'être décrites réside dans le fait qu'elles représentent l'étape préliminaire dans la production d'acides gras dits activés et constituent ainsi une des plaques tournantes vers laquelle convergent les voies métaboliques suivies par les acides aminés, les glucides et les acides gras.

II. VOIES MÉTABOLIQUES SUIVIES PAR LES ACIDES AMINÉS ET LEURS DÉRIVÉS

A l'origine, le sort métabolique des acides aminés a été surtout étudié au cours d'expériences effectuées sur des microorganismes et des mammifères normaux ou rendus diabétiques. Ces études ont fourni un nombre

considérable d'informations quant aux transformations subies par les acides aminés et ont permis non seulement de définir les voies métaboliques principales suivies par les acides aminés et leurs dérivés, mais aussi de mettre en évidence ceux qui ne peuvent être synthétisés par certaines catégories d'organismes.

Les observations réalisées sur des animaux diabétiques ont montré que l'administration de certains acides aminés s'accompagne d'une excrétion urinaire accrue de glucose ou de corps cétoniques, démontrant ainsi la transformation de ces acides aminés en glucose ou en cétones.

Ces résultats ont été confirmés à l'aide d'acides aminés radioactifs et par la mise en évidence dans des extraits cellulaires plus ou moins purifiés, des enzymes responsables des transformations observées.

En général, si la voie métabolique suivie par un acide aminé conduit à l'acide pyruvique, on obtiendra une synthèse de glucose et l'acide aminé en question sera dit glucogénique. Par contre, si la séquence des transformations aboutit à l'acétyl-CoA ou à l'acétoacétate, le résultat sera la formation de corps cétoniques. Selon la nature du produit final de leur métabolisme, on peut donc classer les acides aminés en glucogéniques et en céto-géniques. Le Tableau 14-6 résume les résultats obtenus.

Tableau 14-6
CLASSIFICATION DES ACIDES AMINÉS SELON LA NATURE DU PRODUIT
FINAL DE LEUR MÉTABOLISME

Glucogéniques	Cétogéniques	Appartenant aux deux catégories
Alanine	Leucine	Isoleucine
Acide aspartique		Tyrosine
Acide glutamique		Phénylalanine
Glycocolle		Lysine
Valine		
Arginine		
Cystine		
Histidine		
Proline		
Hydroxyproline		
Sérine		
Méthionine		
Tryptophane		
Thréonine		

Les réactions caractéristiques de la première transformation subie par les acides aminés ont été décrites dans la section précédente, c'est pourquoi, dans les pages qui suivent nous nous intéresserons plus directement à décrire pour chaque acide aminé le sort métabolique des produits résultant de l'enlèvement de la fonction amine de l'acide aminé.

A) ACIDE GLUTAMIQUE, ACIDE ASPARTIQUE ET ALANINE

L'enlèvement de la fonction amine à chacun de ces trois acides aminés conduit à la formation d'acides α -cétoniques qui sont des intermédiaires du cycle des acides tricarboxyliques. L'acide glutamique peut être

l'objet d'une transamination sur de nombreux acides cétoniques. Son oxydation dans la mitochondrie par la déshydrogénase de l'acide L-glutamique, ne semble pas représenter une voie métabolique importante dans la dégradation de cet acide aminé.

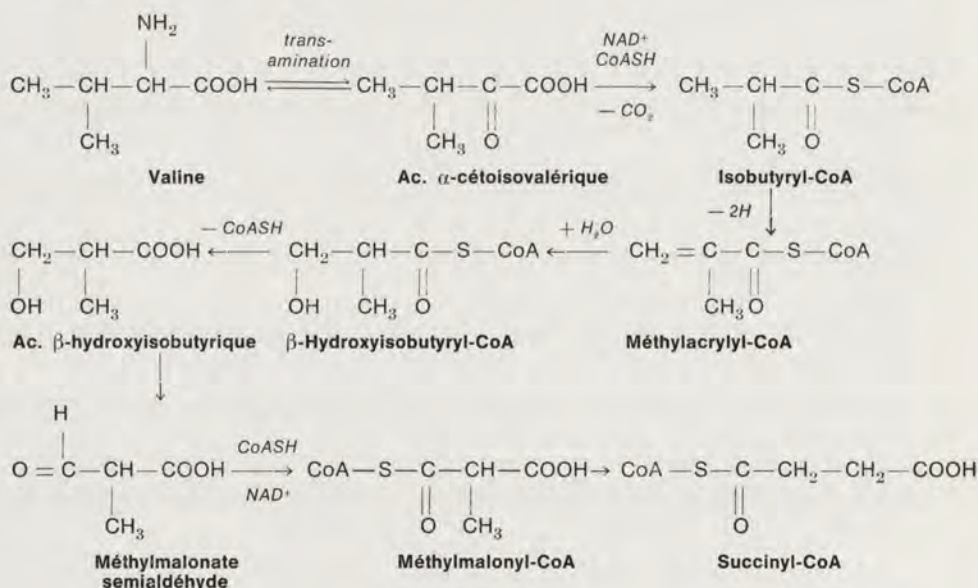
La transamination de l'aspartate et de l'alanine sur l' α -cétoglutarate constitue la première étape la plus importante dans le catabolisme de ces acides aminés.

B) VALINE, LEUCINE ET ISOLEUCINE.

Ces acides aminés n'ont pas de rôle particulier dans le métabolisme des mammifères. Leur fonction principale est celle de fournir aux protéines, des résidus à portion hydrophobe dont l'influence est déterminante dans la structure tertiaire de la protéine.

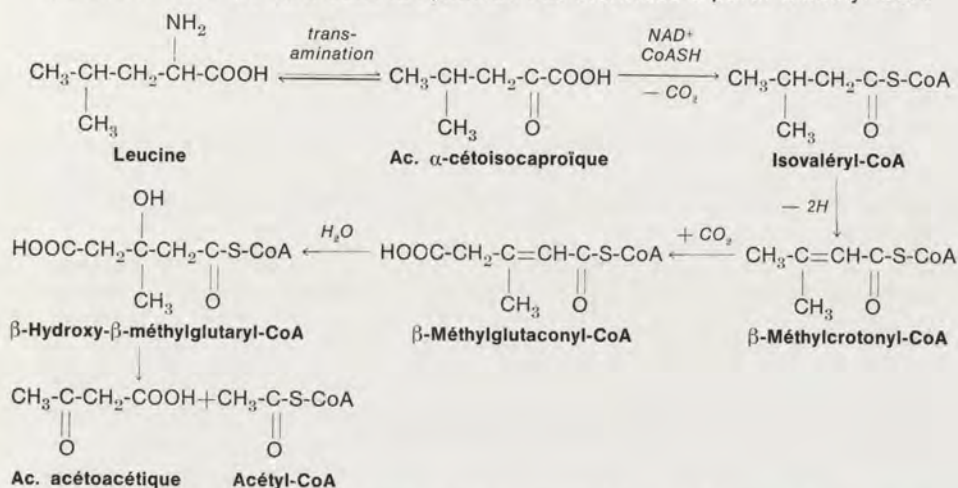
Le sort métabolique de ces trois acides aminés est très voisin. Après transamination, les acides cétoniques correspondants sont l'objet d'une décarboxylation oxydative avec formation d'un dérivé acyl-CoA possédant un atome de carbone en moins. A ce stade les voies métaboliques suivies ne sont pas très différentes de celles empruntées lors de l'oxydation des acides gras.

L'oxydation de la valine conduit à la production de succinyl-CoA qui est complètement oxydé ou qui fournit trois carbones dans la gluconéogenèse.



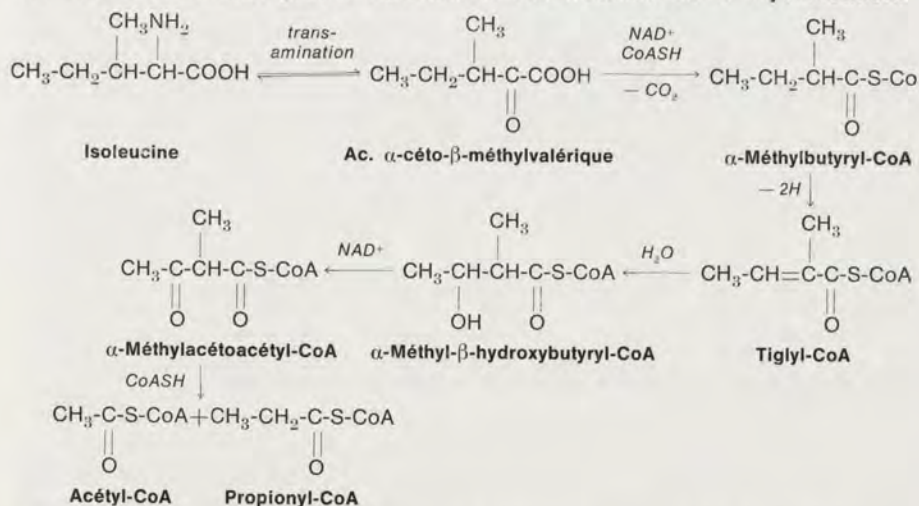
L'oxydation de la leucine aboutit à la production d'une molécule d'acide acétoacétique et d'une molécule d'acétyl-CoA. Ceci est en accord avec l'observation qu'une mole de leucine aboutit à la formation d'une mole et demie d'acide acétoacétique chez l'animal diabétique.

Il est également intéressant de signaler que dans cette voie métabolique apparaît le β -hydroxy- β -méthylglutaryl-CoA qui est un métabolite intermédiaire important dans la synthèse des stéroïdes à partir d'acétyl-CoA.



L'oxydation de l'isoleucine a pour résultat la production d'une mole d'acétyl-CoA et d'une mole de propionyl-CoA, ce qui explique le fait que cet acide aminé est faiblement cétogène et glucogène.

On a récemment mis en évidence une maladie héréditaire portant sur le métabolisme de ces trois acides aminés. Elle est caractérisée par le fait que l'urine contient les trois acides cétoniques correspondants, qui lui donnent une odeur particulière (sirop d'érable). Les enfants porteurs de cette maladie peuvent survivre quelques années mais sont toujours atteints de troubles mentaux graves associés à des troubles de la myélinisation.



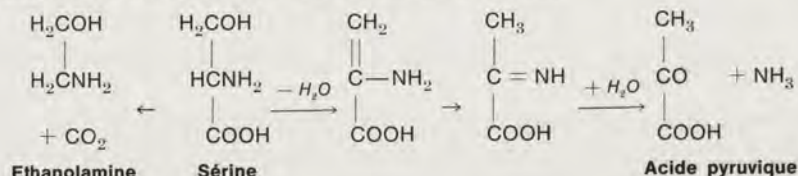
Le fait que les trois acides cétoniques s'accumulent dans les urines indique que la décarboxylation oxydative avec formation d'acyl-CoA ne se fait pas et qu'il n'y a pas d'autre voie métabolique importante disponible pour la

dégradation des acides cétoniques obtenus par transamination. Cette observation plaide également en faveur de l'existence d'un seul enzyme responsable pour l'oxydation des trois acides aminés.

C) SÉRINE ET GLYCOCOLLE

La sérine est déshydratée en présence de L-sérine hydro-lyase avec formation d'acide pyruvique et de NH_3 . Cette réaction nécessite du phosphate de pyridoxal et constitue la voie métabolique principale de cet acide aminé.

Le glycolle peut connaître des destinées multiples, et être transformé, dans le métabolisme, en substances diverses : formiate, acétate, éthanolamine, sérine, acide aspartique, acides gras, purines, pyrimidines, ribose, protoporphyrine. Sa dégradation complète peut s'accomplir, comme celle de la sérine ou de l'éthanolamine, en lesquelles il peut se transformer facilement, jusqu'au stade de l'acide pyruvique, entrant dans la glycolyse ou le cycle des acides tricarboxyliques.



Mais ce n'est pas la seule entrée du glycolle dans les réactions d'amorçage. Le glycolle peut être en effet converti en CO_2 et H_2O au cours du cycle de Shemin, dont le catalyseur n'est pas l'oxaloacétate comme c'est le cas pour le cycle de Krebs, mais le succinate, dont la forme active, le succinyl-CoA se condense avec le glycolle. On peut donc loger le cycle de Shemin dans le cycle de Krebs dont il constitue en somme un shunt (Fig. 14-1).

Le succinyl-CoA se condense avec le glycolle, au niveau du carbone α de ce dernier, pour former l'acide α -amino- β -cétoadipique qui est ensuite décarboxylé en acide δ -aminolévulinique. Ce dernier est désaminé en α -cétoglutaraldéhyde, qui est oxydé en acide α -cétoglutarique. Celui-ci entre dans le cycle des acides tricarboxyliques où il est décarboxylé pour donner l'acide succinique. Au cours de ce cycle, une molécule de glycolle est complètement oxydée en CO_2 et H_2O .

D) ARGININE, ORNITHINE, PROLINE, HYDROXYPROLINE

L'acide glutamique est le précurseur direct, dans la biosynthèse de la proline, de l'hydroxyproline, de l'arginine et de l'ornithine (p. 405). En conséquence, ces acides aminés peuvent être oxydés par la voie de l'acide L-glutamique et suivre le chemin métabolique de ce dernier.

C'est ainsi que, à l'intervention d'une L-proline : NAD(P) 2 ou 5-oxydo-réductase présente dans les mitochondries, la proline est oxydée en

acide Δ^1 -pyrroline-2 ou 5-carboxylique qui, après hydrolyse, donne du semialdéhyde glutamique. Ce dernier composé est également obtenu par transamination de l'ornithine. L'hydroxyproline, par une réaction analogue à celle décrite pour la proline donne de l'acide Δ^1 -pyrroline-3-hydroxy-5-car-

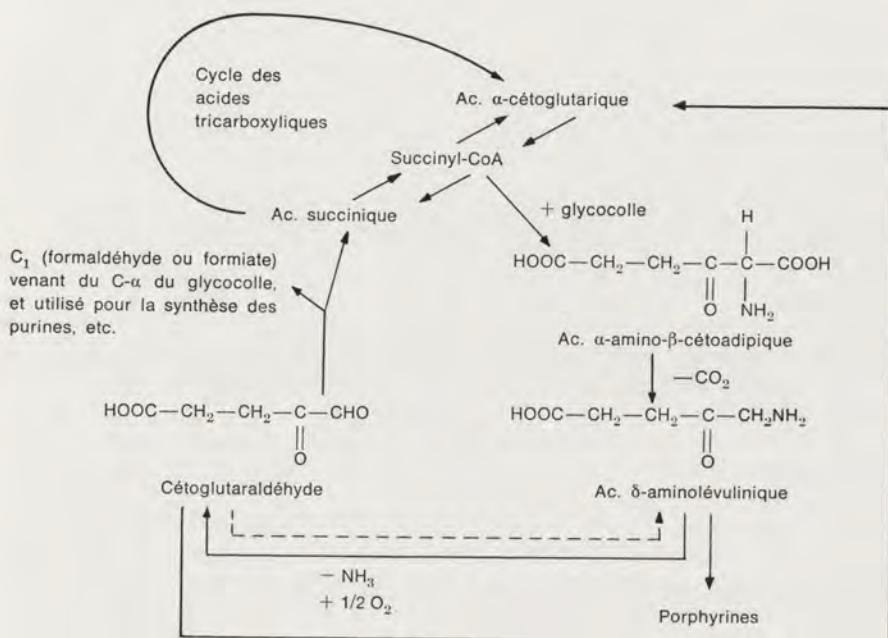


FIG. 14-1. Le cycle succinate-glyoxylate (d'après Shemin).

boxylique, puis de l'acide L- γ -hydroxyglutamique. Par transamination, on obtient de l'acide α -ceto- γ -hydroxyglutarique qui donne alors une molécule des acides pyruvique et glyoxylique.

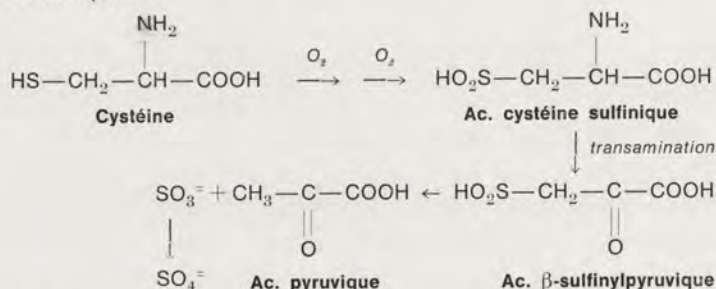
E) GLUTAMINE

La glutaminase catalyse la transformation de la glutamine en acide glutamique et NH_3 . D'autre part, comme nous l'avons indiqué plus haut, la glutamine intervient également dans des réactions de transamination avec formation d'acide α -cétoglutaramique, dont l'hydrolyse produit de l'acide α -cétoglutarique et de l'ammoniaque. L'intérêt particulier qui s'attache au métabolisme de la glutamine provient du fait qu'il s'agit d'une molécule constituant la source principale d'ammoniaque dans le rein. Elle contribue ainsi au métabolisme des cations alcalins et au maintien de la constante du pH du liquide extracellulaire. En outre, puisque l' α -méthylaspartate, un inhibiteur puissant de la L-citrulline : L-aspartate ligase, n'interfère pas avec la synthèse de l'urée chez le rat, on doit supposer qu'il existe une autre source d'ammoniaque que l'aspartate dans la synthèse de l'urée (pp. 385, 527). Ce rôle pourrait être dévolu à la glutamine.

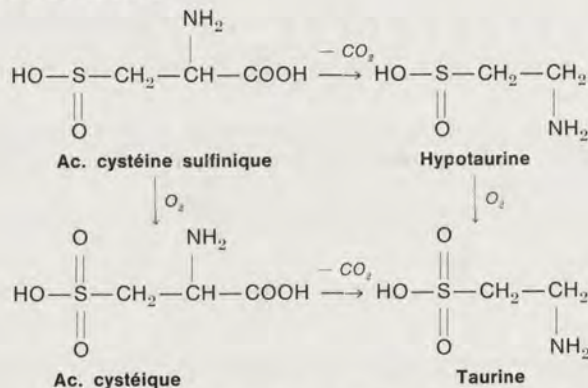
En tout état de cause, comme la constante d'équilibre de la réaction catalysée par la déshydrogénase de l'acide L-glutamique est en faveur de la synthèse du glutamate, il apparaît qu'une des sources principales de NH_3 cellulaire est la glutamine.

F) CYSTINE ET CYSTÉINE

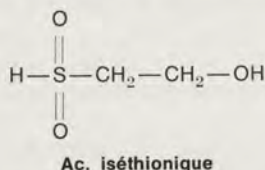
Les produits terminaux du catabolisme de la cystéine sont l'acide pyruvique et le sulfate inorganique. La première étape de la réaction implique l'oxydation du soufre de la molécule avec production d'acide cystéine sulfinique.



Par transamination, on obtient l'acide β -sulfinyl-pyruvique qui est décomposé en acide pyruvique et SO_3^{2-} (1) qui est alors oxydé en sulfate par l'intermédiaire d'un enzyme d'origine microsomique. L'acide cystéine-sulfinique peut aussi être oxydé en acide cystéique ou encore décarboxylé avec formation de taurine.



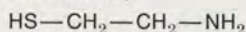
L'utilisation d'isotopes radioactifs a démontré que l'acide iséthionique provient de la taurine



(1) Par analogie avec les réactions de décarboxylation, on admet que c'est du SO_2 qui est produit. Le SO_3^{2-} obtenu résulterait d'une hydratation du SO_2 suivie d'ionisation.

La voie métabolique suivie est toutefois inconnue. Cet acide joue un rôle important dans l'équilibre cation-anion du liquide intracellulaire de certains mollusques.

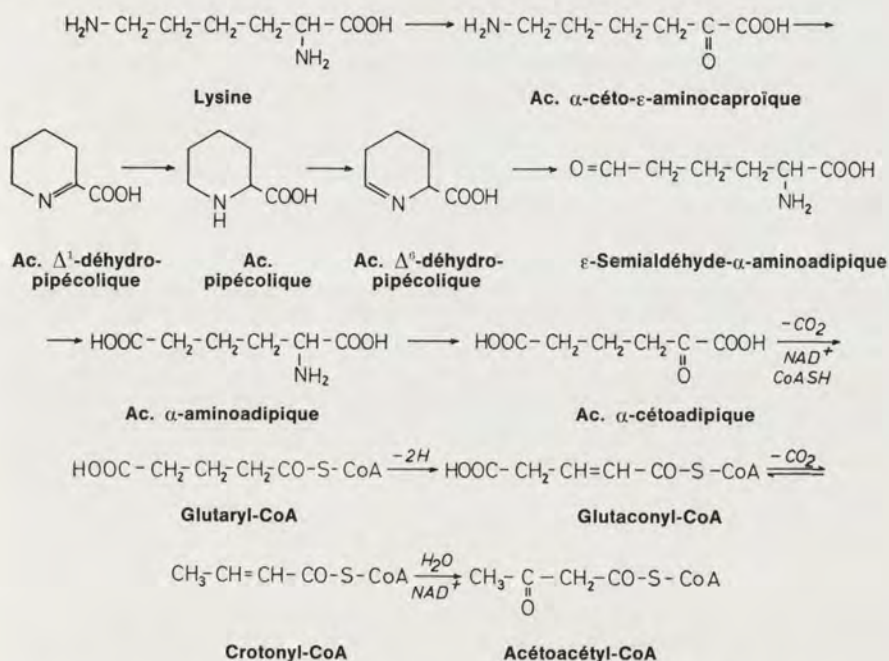
La cystéamine (thioéthanolamine)



est présente dans le CoA. Son oxydation conduit à la formation d'hypotaurine et de taurine. Comme le démontrent les travaux de Bacq et de son école, cette molécule joue le rôle de radioprotecteur.

G) LYSINE

La lysine ne participe pas aux réactions de transamination. La désamination oxydative peut toutefois se faire en présence de l'oxydase des acides L-aminés que l'on trouve dans le foie avec pour résultat la formation d'acide α -céto- ϵ -aminocaproïque. La voie suivie est indiquée ci-dessous :



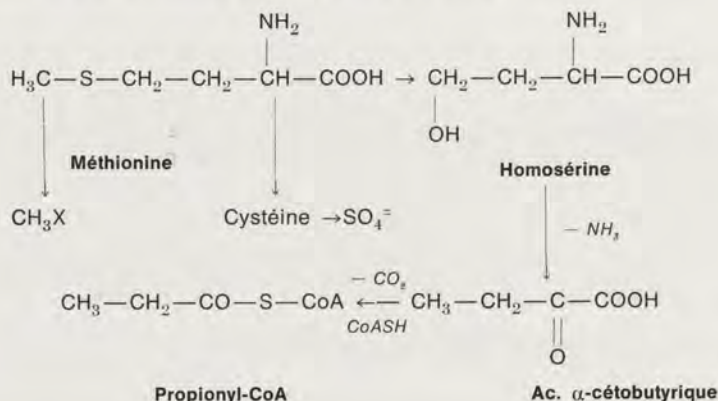
A partir du stade de l'acide α -cétoadipique une autre voie possible, démontrée chez le rat, est celle aboutissant à l'acide α -cétoglutarique.

H) MÉTHIONINE

Un des aspects importants du métabolisme de la méthionine est le transfert d'un groupe méthyle à un accepteur approprié. En conséquence, le groupe est excrété par exemple sous forme de créatinine ou de

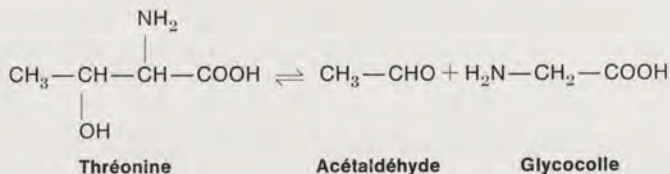
N¹-méthyl nicotinamide, ou bien il est oxydé et transféré sur l'acide tétra-hydrofolique et de là au glycolle en donnant ainsi le carbone β de la sérine, qui devient le carbone du groupe méthyle de l'acide pyruvique.

L'atome de soufre est utilisé dans le métabolisme de la cystéine et est, comme indiqué plus haut, excrété sous forme de sulfate. Associée à la déméthylation de la méthionine, cette réaction laisse alors, à partir de la molécule initiale, de l'homosérine dont le métabolisme est résumé ci-dessous. X est un accepteur de groupe méthyle.

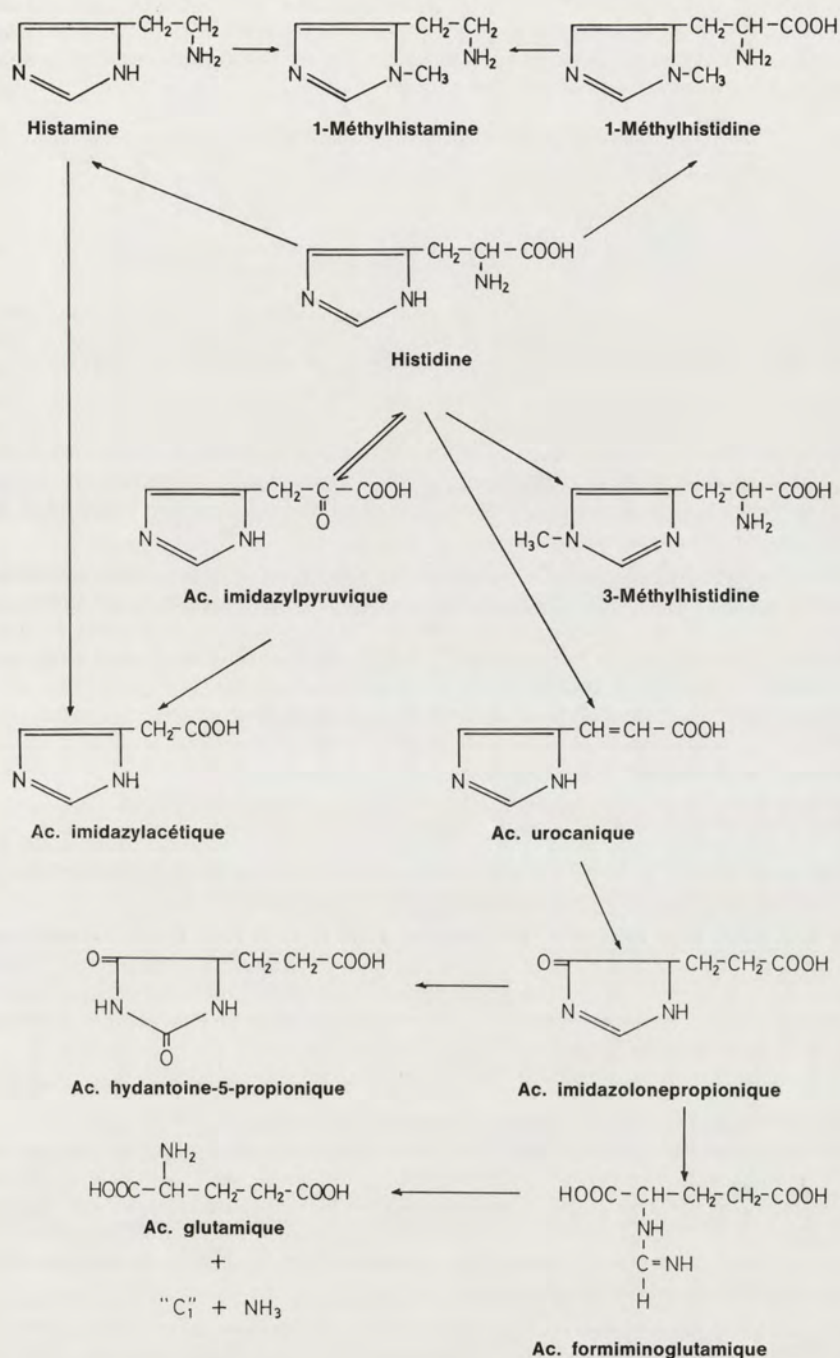


1) THRÉONINE

La thréonine n'est pas l'objet de réaction de transamination et d'autre part son azote aminé ne paraît pas intervenir dans des réactions d'échange comme l'indiquent les résultats d'expériences effectuées à l'aide de ¹⁵N administré à l'animal sous diverses formes (glutamate, etc.). On doit donc conclure de ces résultats que l'entrée de la thréonine dans les réactions métaboliques ne s'accomplit pas à la faveur d'une réaction de transamination. Par contre, on a décrit dans le foie et le rein, un enzyme, la L-thréonine acétaldéhyde-lyase (aldolase de la thréonine) qui, en présence de phosphate de pyridoxal, catalyse la transformation de la L-thréonine en glycolle et acétaldéhyde.



D'autre part, après désamination, la thréonine fournit de l'acide α -céto-butérique qui emprunte alors la voie déjà décrite dans le cas de la méthionine. Ceci explique que chez l'animal diabétique, on retrouve trois des quatre carbones de la thréonine dans le glucose, alors que par la voie de la réaction catalysée par l'aldolase de la thréonine (E. N. 4.1.2.5), on devrait retrouver deux carbones dans le glucose (par l'intermédiaire du glycolle)



et deux carbones dans les corps cétoniques (par l'intermédiaire de l'acétaldéhyde). Comme la thréonine est essentiellement glucogénique, on doit conclure que la réaction de désamination de la thréonine est dominante dans la dégradation de cet acide aminé.

J) HISTIDINE

Les voies métaboliques suivies par l'histidine sont résumées dans le schéma ci-avant.

La désamination par la L-histidine ammonia-lyase aboutit à la formation d'urocanate. C'est essentiellement une réaction irréversible. L'enzyme fait défaut chez certains individus et conduit à la maladie (héréditaire) connue sous le nom d'histidinémie. Elle se caractérise par une élévation des concentrations sanguine et urinaire en histidine. Le groupe formimino de l'acide α -formiminoglutamique peut être transféré enzymatiquement en position N⁵ de l'acide tétrahydrofolique. Après hydrolyse et cyclisation en dérivé N⁵,10-formyl, le C-2 de l'anneau imidazole de l'histidine rentre ainsi dans le pool des unités à un carbone.

Ces réactions expliquent pourquoi le déficit en acide folique s'accompagne toujours d'une excrétion importante d'acide formiminoglutamique. Signalons enfin que la transamination de l'histidine a pour résultat la production d'acide imidazylpyruvique. L'acide hydantoïne 5-propionique est excrété tel quel dans l'urine.

K) PHÉNYLALANINE ET TYROSINE

La 4-hydroxylase de la phénylalanine catalyse la transformation de L-phénylalanine en tyrosine avec pour conséquence une métabolisation de la phénylalanine par la voie empruntée par la tyrosine.

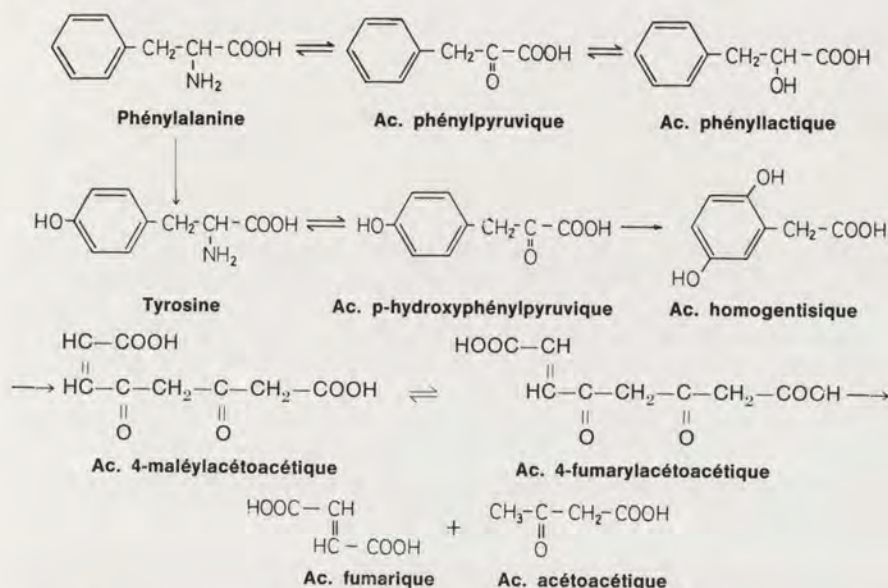
Ce n'est que dans le cas de la maladie connue sous le nom de phénylcétonurie que le métabolisme de la phénylalanine aboutit à la formation d'acide phénylpyruvique. Ce dernier peut être réduit en acide phényllactique qui est alors oxydé en acide phénylacétique et excrété sous forme de phénylacétylglutamine.

En ce qui concerne la tyrosine, la voie métabolique suivie est schématisée ci-après.

En comparant la structure de l'acide p-hydroxyphénylpyruvique et de son produit d'oxydation, l'acide homogentisique, on peut voir que la réaction implique une séquence de transformations (hydroxylation du noyau benzène, oxydation, décarboxylation et migration de la chaîne latérale) qu'il n'a pas encore été possible de dissocier. Un seul enzyme semble être responsable du phénomène global.

L'activité de cet enzyme est basse dans le foie du fœtus et augmente lentement après la naissance. Ceci explique l'excrétion urinaire d'acide p-hydroxyphénylpyruvique chez le prématuré et chez le jeune enfant nourri de tyrosine. La déficience en vitamine C s'accompagne également du même syndrome, ce qui suggère la participation de l'acide ascorbique

dans le fonctionnement normal de l'enzyme. La vitamine C intervient également dans l'oxydation de l'acide homogentisique : dans le scorbut, on observe une excrétion urinaire d'acide homogentisique après administration de tyrosine. On observe également une accumulation d'acide homogentisique dans la maladie métabolique connue sous le nom d'alcaptonurie. Il s'agit d'une absence de la homogentisate : oxygène oxydoréductase, enzyme hépatique catalysant l'oxydation de l'acide homogentisique en acide 4-maléylacétoacétique.



L'acide 4-maléylacétoacétique, un composé *cis*, est transformé à l'intervention d'une isomérase en la forme *trans*, l'acide fumarylacétoacétique dont l'hydrolyse aboutit à la formation d'une molécule d'acide fumarique et d'acide acétoacétique, ce qui explique le caractère à la fois cétogénique et glucogénique de la phénylalanine et de la tyrosine chez le diabétique.

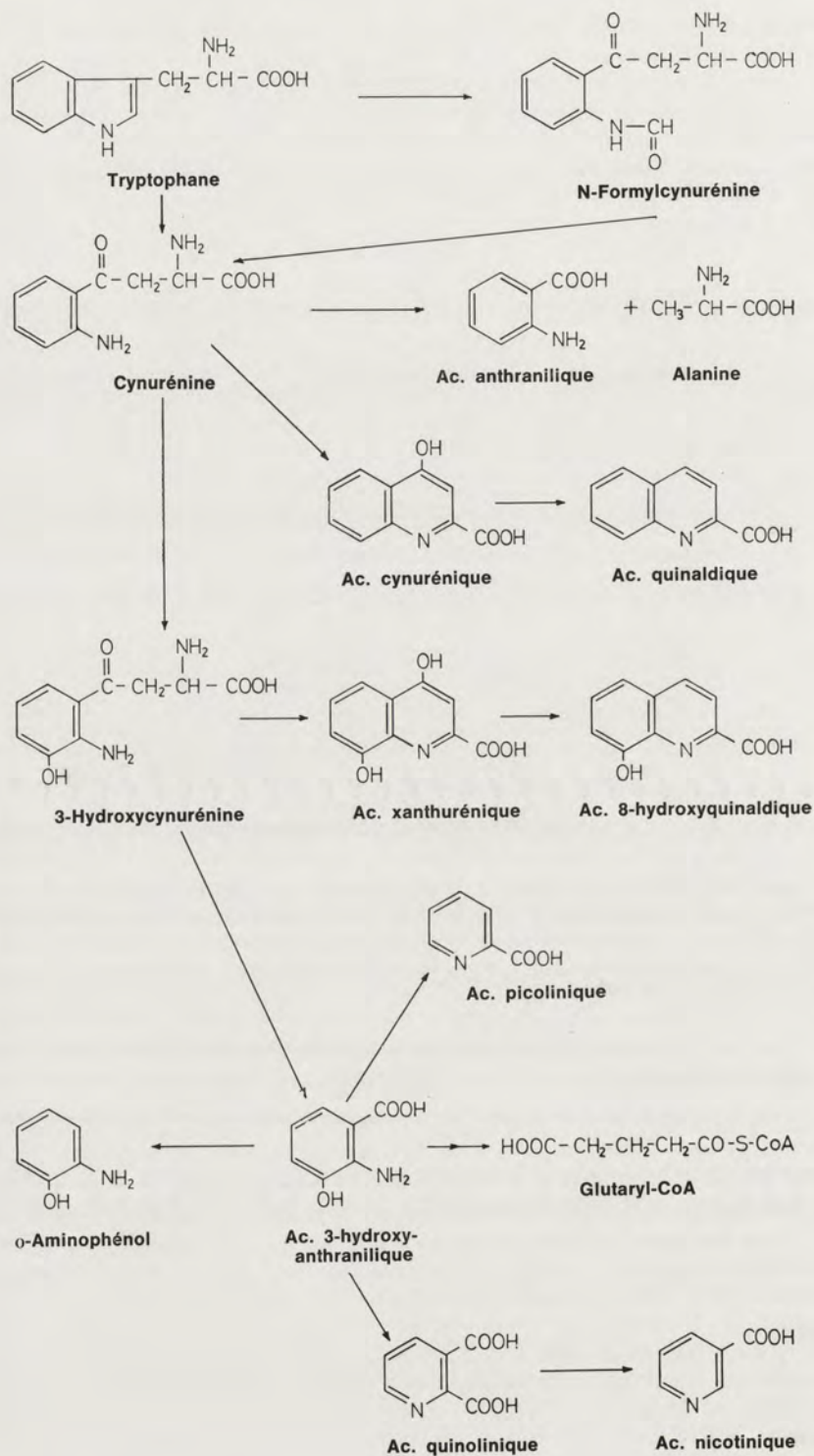
L) TRYPTOPHANE

Les voies métaboliques suivies par le tryptophane et aboutissant à la formation de sérotonine et d'acide indolacétique ont été décrites p. 388.

Les autres voies métaboliques empruntées sont résumées ci-dessous.

Tous les produits intermédiaires indiqués se retrouvent dans l'urine à l'exception du glutaryl-CoA et leur somme représente approximativement le métabolisme total du tryptophane. Parmi eux, seuls la sérotonine, l'acide nicotinique, l'alanine, le glutaryl-CoA et son produit de métabolisme l'acétyl-CoA, jouent un rôle important dans le métabolisme cellulaire. C'est ainsi qu'une administration de tryptophane peut compenser une déficience en acide nicotinique ; ce fait a été démontré chez le rat et chez l'homme. Dans la maladie de Hartnup, caractérisée par une arriération mentale,

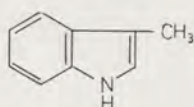




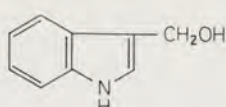
on observe une diminution importante de l'oxydation du tryptophane en formylcynurénine. Ce trouble métabolique est associé à une faible activité de la L-tryptophane : oxygène oxydoréductase qui est un enzyme adaptatif dont l'activité dans le foie peut être considérablement accrue par administration soit du tryptophane, soit par une élévation du taux sanguin des hormones du cortex surrénalien.

On trouve dans l'urine des mammifères de l'acide indolacétique formé à partir d'acide indolacétique et de glycolle. Dans l'urine des patients atteints de phénylcétonurie on trouve de l'acide indolacétique et de l'acide indolactique en concentration élevée.

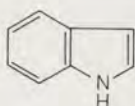
Les microorganismes du gros intestin sont capables de transformer l'acide indolacétique en scatole, scatoxyle, indole et indoxyle.



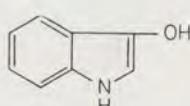
Scatole



Scatoxyle

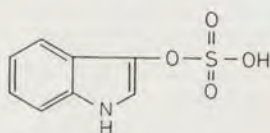


Indole



Indoxyle

C'est le scatole et l'indole qui sont responsables de l'odeur caractéristique des matières fécales. Ces molécules formées dans la lumière intestinale peuvent passer dans la circulation sanguine et après conjugaison au sulfate ou à l'acide glucuronique dans le foie, sont alors excrétées dans l'urine sous forme d'ester sulfurique ou de glucosiduronate.



Indoxylsulfate

M) SCHÉMA GÉNÉRAL

Le schéma de la figure 14-2 montre les voies générales de l'oxydation complète des acides aminés. Cela ne signifie évidemment pas que les acides aminés suivent toujours ces voies. Ainsi que nous venons de le montrer, il peut exister, et il existe en particulier chez les animaux, des interrelations nombreuses entre les voies du métabolisme des acides aminés. Le schéma de la figure 14-2 montre les méthodes les plus importantes au moyen desquelles les chaînes carbonées des acides aminés peuvent être complètement oxydées.

III. BIOSYNTHÈSE DES ACIDES AMINÉS

A) ACIDES AMINÉS NON ESSENTIELS

Le mécanisme principal de la synthèse des acides aminés dits non essentiels est le transfert du groupe NH_2 de l'acide glutamique sur les acides α -cétoniques correspondants. Ces réactions de transamination constituent également le mécanisme d'échange de la fonction aminée entre différents acides aminés.

1. Acide glutamique, acide aspartique et alanine

Les acides cétoniques correspondants à ces acides aminés sont des membres du cycle des acides tricarboxyliques. L'acide glutamique a sa source majeure dans l'acide α -cétoglutarique formé au cours de ce cycle. Cet acide ne peut lui-même provenir que de la décarboxylation oxydative de l'acide isocitrique, car la décarboxylation de l' α -cétoglutarate en succinate est irréversible. C'est la seule voie de formation de l'acide glutamique ayant les glucides comme origine.

Chez certains microorganismes comme *Escherichia coli*, c'est aussi la source unique, tandis que, chez les autres organismes, d'autres sources peuvent contribuer à la formation d'acide glutamique. C'est le cas pour la proline, l'arginine, l'histidine et, par la voie de l'acide δ -aminolévulinique, pour le glycocolle et l'acide succinique.

Quant au groupe aminé, il est dérivé de l'ammoniaque que fixe sur l'acide α -cétoglutarique la déshydrogénase glutamique ou de la fonction aminée d'un autre acide aminé, transférée par transamination. Par transamination sur le pyruvate ou l'oxaloacétate, le glutamate fournit l'alanine ou l'aspartate.

2. Glutamine et asparagine

La glutamine est synthétisée à partir d'acide glutamique et de NH_3 . La réaction est catalysée par la synthétase de la glutamine (L-glutamyl : ammonia ligase) et nécessite la fourniture d'énergie à partir d'ATP.

Une réaction analogue est à l'origine de l'asparagine chez les plantes et les microorganismes. Chez les mammifères, la voie métabolique suivie n'est pas encore précisée et comme alternative de celle qui vient d'être décrite, on a proposé le transfert de l'azote amidé de la glutamine sur l'acide aspartique. Ces amides semblent constituer la source principale d'ammoniaque cellulaire.

3. Proline, hydroxyproline, ornithine et arginine

L'acide glutamique est le précurseur de ces quatre acides aminés. L'ornithine n'intervient jamais dans la synthèse des protéines, mais est un intermédiaire dans la synthèse de l'arginine, et de ce fait participe au cycle de l'urée (pp. 385, 527).

La formation de l'arginine à partir de l'ornithine, *via* la citrulline est connue depuis longtemps à la suite de recherches conduites par la méthode d'analyse des enzymes : ce fut, dans le « cycle de l'ornithine » de Krebs et Henseleit, l'un des premiers schémas biosynthétiques connus.

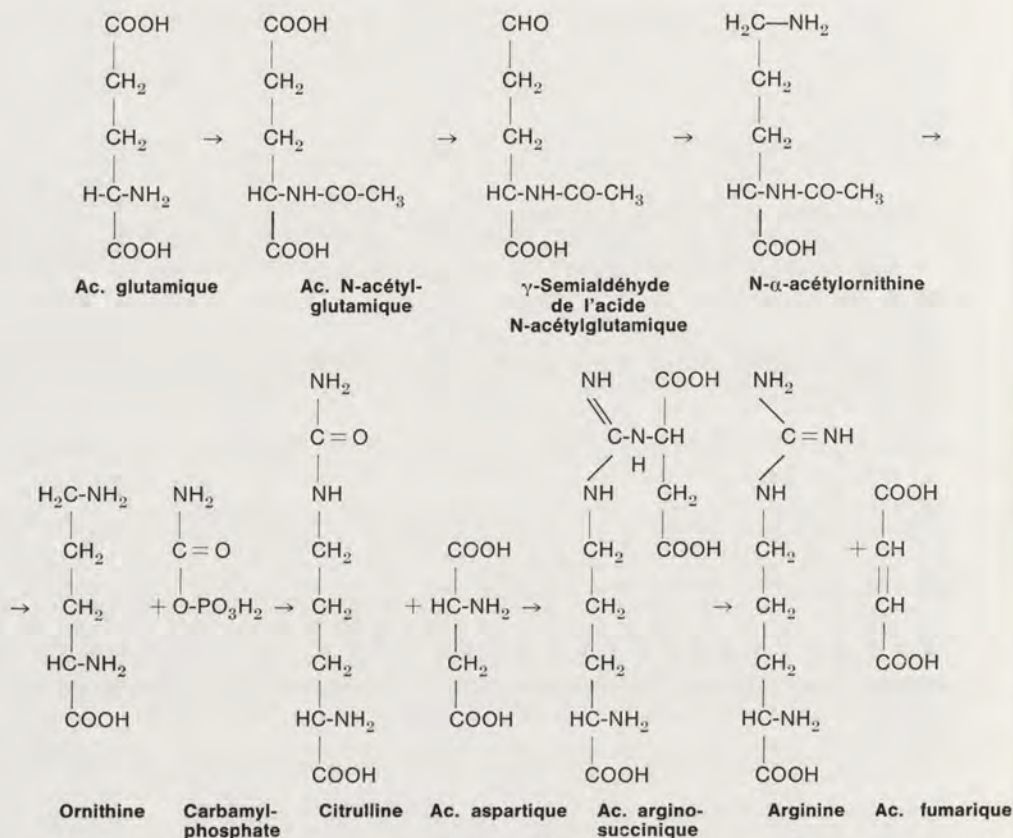


FIG. 14.3. Biosynthèse de l'arginine et de l'ornithine à partir de l'acide glutamique (d'après Davis).

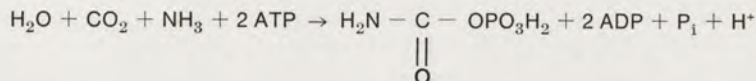
La séquence ornithine-citrulline-arginine, d'abord mise en évidence dans le foie de mammifère, a été retrouvée dans de nombreux organismes (*Neurospora*, *Penicillium*, *E. Coli*, bactéries lactiques, tissus animaux, etc.).

La relation glutamate-ornithine est attestée par la découverte d'un mutant de *Penicillium* répondant à l'un comme à l'autre, et par l'emploi des isotopes. L'emploi de *E. coli* a permis à Vogel d'identifier les trois composés acétylés montrés dans le schéma.

L'étude de la voie allant de l'ornithine à la citrulline, a permis d'identifier, au moyen de mutants de *Neurospora*, deux étapes. Dans la première, qui exige la présence d'ATP, CO_2 et NH_3 sont fixés, en formant un composé, le carbamyl-phosphate. Cette réaction qui est catalysée par la synthétase

du carbamyl-phosphate (ATP : carbamate phosphotransférase) est réversible chez les microorganismes et peut ainsi représenter une source d'ATP.

Chez les mammifères, la réaction est plus complexe et est irréversible. Elle fait intervenir une deuxième mole d'ATP :



La deuxième étape aboutit à la formation de citrulline à partir d'ornithine et de carbamyl-phosphate. La voie qui conduit de la citrulline à l'arginine comporte plusieurs étapes. La citrulline se condense avec l'aspartate pour former l'argino-succinate. Un enzyme spécifique scinde l'argino-succinate en arginine et acide fumarique. Cette réaction n'est ni hydrolytique, ni oxydative et est réversible. L'enzyme la catalysant est largement répandu dans la nature et se trouve dans le foie, le rein et le cerveau de mammifères.

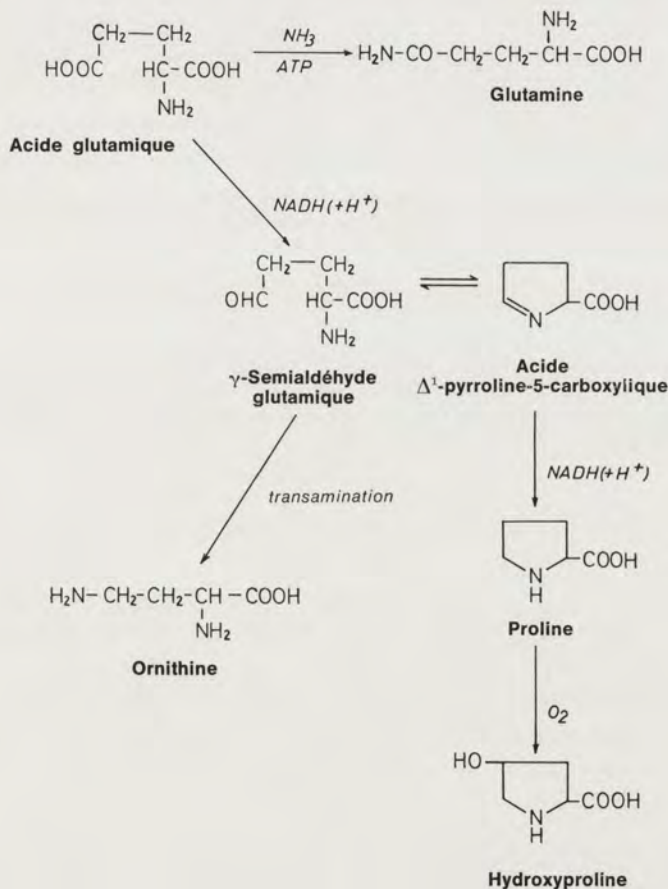


FIG. 14-4. Biosynthèse de l'hydroxyproline à partir de l'acide glutamique.

L'ornithine reçoit son groupe aminé terminal par transamination du glutamate et comme l'acide aspartique est également formé par le même mécanisme, on voit que trois des quatre atomes d'azote de l'arginine proviennent de l'acide glutamique. Le quatrième a son origine dans le carbamyl-phosphate.

L'acide fumarique formé peut être hydraté en acide malique et réoxydé en acide oxaloacétique dans le cycle des acides tricarboxyliques. La transamination sur l'oxaloacétate fournit de l'aspartate qui peut être alors réintroduit dans le cycle.

La biosynthèse de la proline a été élucidée grâce à l'obtention de souches d'*E. coli* spécifiquement auxotrophes pour la proline. Ces souches peuvent se répartir en deux groupes : celles qui accumulent le γ -semialdéhyde glutamique et celles chez qui ce corps peut remplacer l'acide glutamique comme facteur de croissance. La réduction de l'acide glutamique en semialdéhyde est sans doute moins simple que ne le ferait supposer la flèche du schéma ci-dessus. Quant à la cyclisation de la proline, elle ne requiert pas d'intervention enzymatique, les γ - et les δ -aminoaldéhydes se cyclisant en effet rapidement en solution aqueuse neutre.

L'hydroxyproline est surtout présente dans le tissu conjonctif des animaux. Chez ces derniers, l'emploi des isotopes a démontré qu'elle est le résultat de la modification de la proline, vraisemblablement déjà fixée, car l'hydroxyproline marquée est mal incorporée dans les tissus.

La voie métabolique conduisant à la synthèse de l'ornithine par transamination sur le γ -semialdéhyde glutamique paraît être peu importante chez les microorganismes.

L'administration de glutamate- ^{14}C aboutit au marquage rapide de la proline, de l'hydroxyproline et de l'arginine dans les protéines tissulaires.

4. Sérine et glycolle

La chaîne hydrocarbonée de la sérine provient de l'acide 3-phosphoglycérique formé au cours de la glycolyse. Cet acide peut alors emprunter soit la voie conduisant à la sérine soit celle aboutissant à l'ester 3-phosphoré de la sérine.

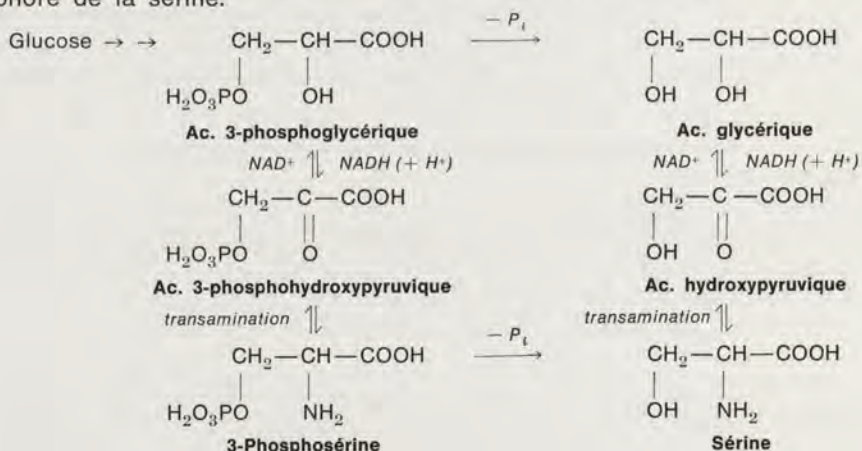
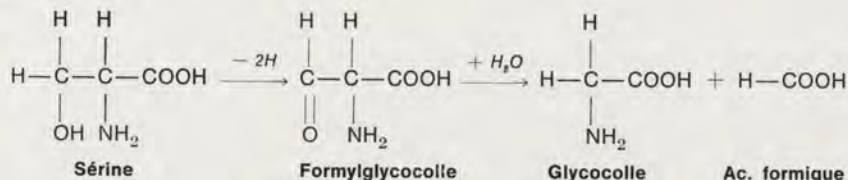


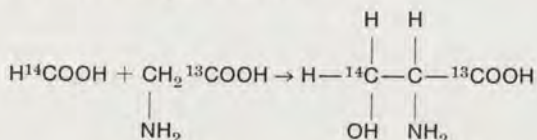
FIG. 14-5. Biosynthèse de la sérine à partir de l'acide 3-phosphoglycérique.

L'ester phosphoré peut être utilisé pour la synthèse des phosphatides ou hydrolysé par la phosphosérine phosphohydrolase en sérine et ortho-phosphate. C'est la voie biosynthétique principale de la sérine. Selon Shemin, la sérine se convertit en glycolle en passant par le formylglycolle



La démonstration de la réalité de cette voie a été obtenue en administrant de l'acide benzoïque et de la sérine marquée sur le groupe aminé (^{15}N) et sur le carboxyle (^{13}C) à des cobayes et à des rats. L'analyse du glycolle présent dans les urines sous forme de benzoylglycolle (acide hippurique) a permis de montrer que le rapport $^{15}\text{N}^{13}\text{C}$ du glycolle était identique à celui de la sérine administrée. Ce résultat confirme donc la formation de glycolle par perte du carbone β de la sérine. Cette réaction est importante, non seulement parce qu'elle aboutit à la synthèse de glycolle à partir de sérine, mais aussi parce qu'elle est la source principale d'« unités à un carbone » (p. 431). La transformation en groupes $-\text{CH}_3$, $-\text{CHO}$ et $-\text{CH}_2\text{OH}$ permet ainsi leur addition à différentes molécules. Le glycolle peut également provenir de la thréonine avec formation d'acétate.

La sérine est aussi synthétisée à partir de « formiate » et de glycolle. Si on marque le formiate par du ^{14}C et le carboxyle du glycolle par du ^{13}C , on obtient de la sérine marquée deux fois :



La formation de la sérine à partir du glycolle et du « formiate » implique une intervention de l'acide folique et du pyridoxal, ainsi que l'ont montré diverses expériences sur des bactéries.

5. Cystéine et cystine

Le squelette carboné de la cystéine provient de la sérine, aussi bien chez les mammifères que chez les microorganismes, comme l'ont démontré des expériences réalisées au moyen d'isotopes. Le soufre de la cystéine a son origine dans les sulfates chez les microorganismes, et dans la méthionine (acide aminé dit essentiel) chez les mammifères (transsulfuration).

Le passage de la sérine à la cystéine s'accomplit par condensation de la sérine avec l'homocystéine dérivant de la déméthylation de la méthionine, ou plus exactement de celle de la S-adénosylméthionine, au cours des transméthylations (p. 432).

La cystathionine se trouve en concentrations élevées dans le cerveau des primates. Son rôle biologique est obscur. L'homosérine est transformée rapidement en acide α -cétobutyrique.

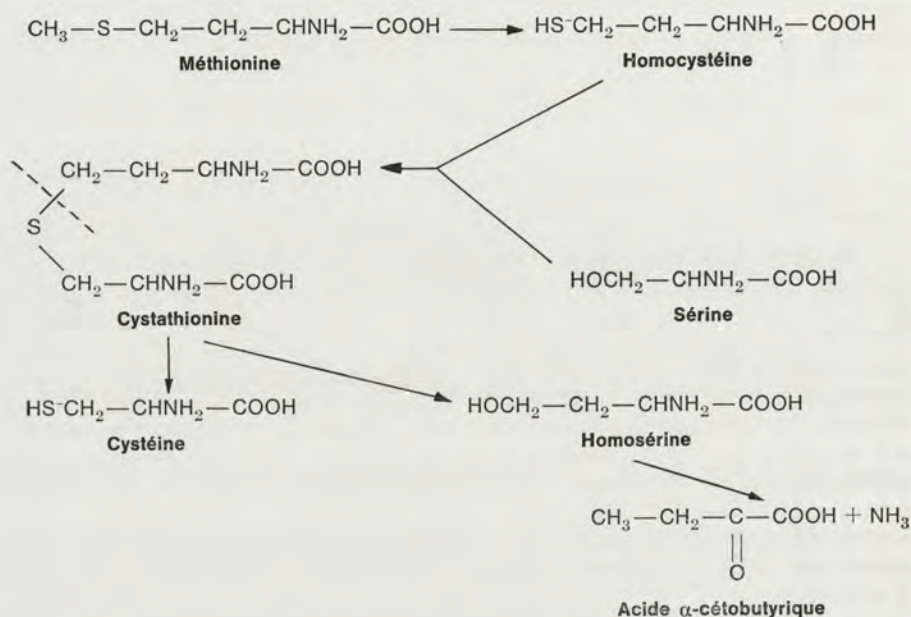
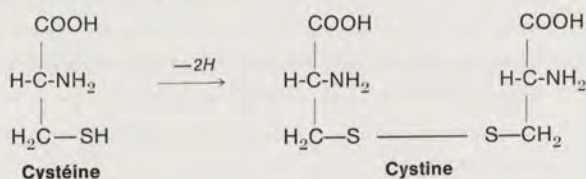
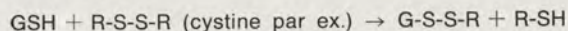


FIG. 14-6. Biosynthèse de la cystéine à partir de la méthionine et de la sérine.

L'équivalence métabolique de la cystéine et de la cystine est bien démontrée. Pourtant on ne connaît pas chez les mammifères de système enzymatique catalysant l'interconversion de ces molécules. On sait toutefois qu'en présence d'oxygène et d'ions ferreux ou cuivreux, la cystine peut être formée à partir de cystéine.



La cystine peut alors être retransformée non enzymatiquement en cystéine par le glutathion. Le glutathion réduit (GSH) peut réduire un disulfure selon le schéma



Le glutathion oxydé (G-S-S-G) est réduit par le NADPH (+H⁺) en présence de la réductase du glutathion. Le cycle est ainsi complété et le

glutathion réduit peut de nouveau être utilisé pour la fourniture de cystéine à la cellule à partir de cystine.

Il est intéressant de remarquer qu'il y a peu de cystine libre dans la cellule. La cystine qui se trouve dans les protéines n'est pas incorporée comme telle dans la chaîne peptidique mais bien sous forme de cystéine qui est alors oxydée. La cystine peut aussi être réduite enzymatiquement par le NAD réduit en présence de la NADH (+H⁺) : L-cystine oxydoréductase.

6. Tyrosine

La tyrosine a pour précurseur la phénylalanine, un acide aminé dit essentiel. C'est une relation analogue à celle décrite à propos de la cystéine et de la méthionine. En fait le caractère d'essentialité de la phénylalanine provient de ce qu'elle est le précurseur de la tyrosine. Si donc dans le régime d'un animal on fournit de la tyrosine, le besoin en phénylalanine est considérablement réduit. Le sort métabolique de la phénylalanine est, soit d'entrer dans la synthèse des protéines, soit de fournir par hydroxylation de la tyrosine. L'enzyme catalysant la réaction, la L-phénylalanine, tétrahydroptéridine : oxygène oxydoréductase, peut faire défaut chez certains individus, avec pour conséquence l'excrétion dans les urines de corps phénylcétoniques provenant de l'utilisation par la phénylalanine de voies métaboliques autrement peu fréquentées. La transamination aboutit à la formation d'acide phénylpyruvique (p. 400) excrété dans les urines. Une concentration trop élevée de cette molécule dans le sang détermine chez l'enfant jeune des troubles métaboliques irréversibles au niveau du système nerveux central avec pour conséquence un état d'arriération mentale (idiotie phénylpyruvique).

B) ACIDES AMINÉS ESSENTIELS

1. Méthionine, thréonine et homosérine

Les expériences de génétique chimique sur *Neurospora* ont démontré que la thréonine et la méthionine ont un précurseur commun. En effet, un mutant exigeant à la fois les deux acides aminés satisfait cette double exigence au moyen de la L-homosérine. D'autre part, un mutant bloqué uniquement dans la synthèse de la méthionine accumule dans son mycelium la thréonine et la L-homosérine. La notion du précurseur unique a été confirmée chez *E. coli* et chez la levure, dans des expériences réalisées au moyen d'isotopes, comme aussi par des expériences enzymologiques. La synthèse de la méthionine est l'inverse de la synthèse de la cystéine, décrite plus haut (p. 409), via l'homocystéine et avec comme intermédiaire la cystathionine. Chez les microorganismes la cystathionine peut être scindée à un côté ou à l'autre du soufre. Chez le mammifère, par contre, elle ne peut être coupée entre le soufre et le résidu séryle. Le mammifère ne fait donc pas la synthèse de l'homocystéine.

L'homocystéine accepte alors un groupe méthyle donné par un dérivé de l'acide tétrahydrofolique méthylé (p. 431). Cette réaction nécessite la présence de vitamine B₁₂ et aboutit à la synthèse de la méthionine.

Les animaux ne peuvent synthétiser l'homosérine à partir d'aspartate, ils dépendent donc de la fourniture de méthionine dans leur régime pour

obtenir cet acide aminé. D'autre part, à partir de méthionine ils peuvent obtenir de l'homocystéine et de la cystéine. C'est ce qui explique qu'un rat soumis à un régime artificiel contenant de la cystéine ne doit recevoir

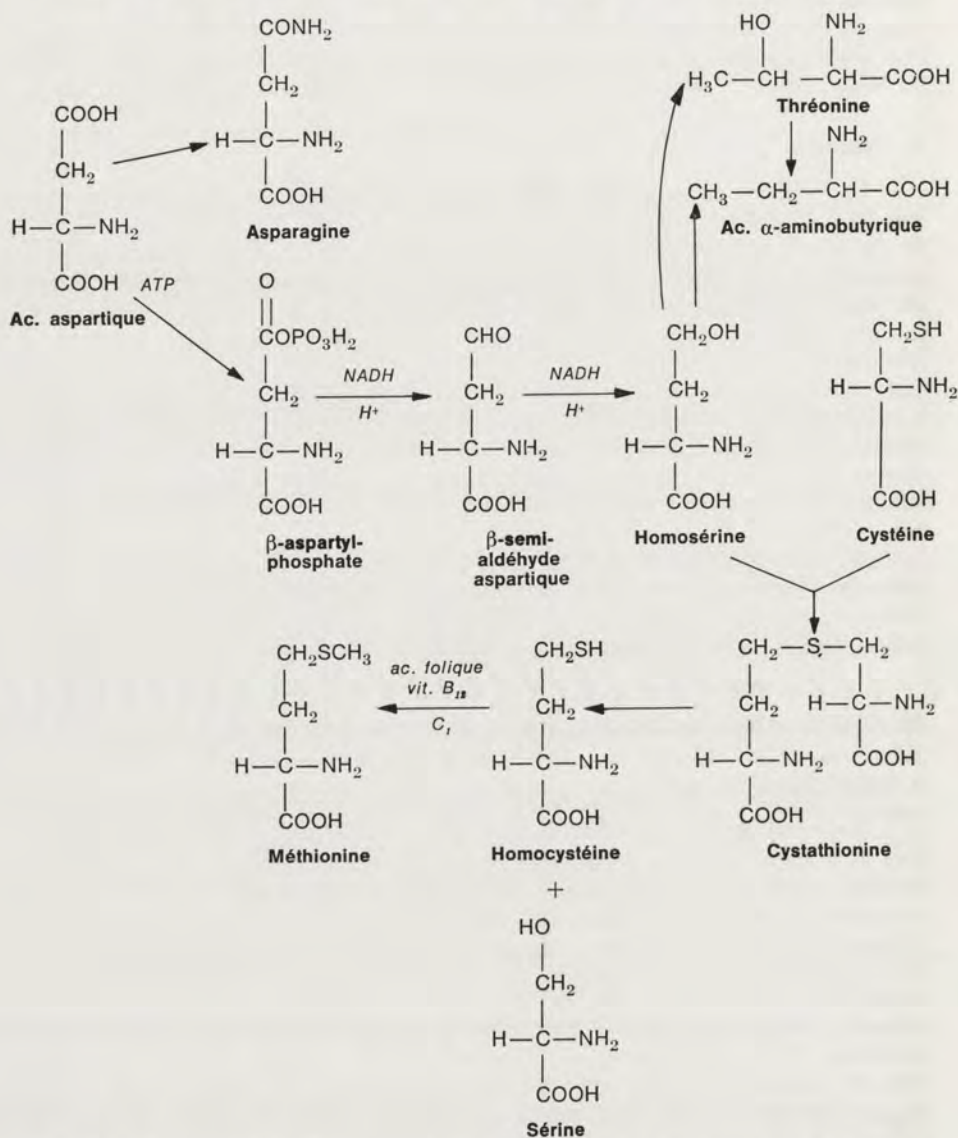


FIG. 14-7. Biosynthèse de la méthionine, de la thréonine et de l'homosérine à partir de l'acide aspartique.

qu'une fourniture de méthionine moitié moindre de celle normalement requise.

La thréonine est également formée à partir d'aspartate par l'intermédiaire de l'homosérine. L'homosérine est phosphorylée en présence d'ATP

et d'ATP : L-homosérine *o*-phosphotransférase pour donner de l'*o*-phospho-homosérine et de l'ADP.

La formation de thréonine est catalysée par l'*o*-phosphohomosérine phospho-lyase qui, en présence de phosphate de pyridoxal, hydrolyse le phosphate et détermine la migration de la fonction hydroxyle en position β .

Le milieu de culture de certains microorganismes contient de la thréonine. Ce fait s'explique par un effet répresseur de la thréonine sur la synthèse de l'ATP : L-aspartate 4-phosphotransférase, enzyme qui catalyse la formation de 4-aspartylphosphate, le premier intermédiaire de la synthèse de thréonine à partir d'acide aspartique.

2. Valine, leucine et isoleucine

Le point de départ de notre connaissance du mécanisme de leur biosynthèse est la découverte d'un mutant de *Neurospora* exigeant à la fois isoleucine et valine. Ce mutant accumule les dihydroxydérivés correspondants : les acides dihydroxy-méthylvalérique et dihydroxy-isovalérique. D'autre part, un mutant d'*E. coli* accumule, lui, les acides cétoniques correspondants, acides α -cétométhylvalérique et α -cétoisovalérique. Les mutants accumulateurs des acides cétoniques ne répondent qu'à l'isoleucine et à la valine tandis que les accumulateurs de dihydroxyacides répondent non seulement aux acides aminés, mais encore aux céto-acides correspondants. Chez un auxotrophe pour l'isoleucine seule, les acides dihydroxyméthylvalérique et cétométhylvalérique sont actifs, tandis que chez un auxotrophe pour la valine seule, les acides dihydroxyisovalérique et α -cétoisovalérique sont actifs.

D'autre part, on bloque la synthèse de l'isoleucine et de la valine par l'omission d'une transaminase unique.

L'ensemble des faits enseigne que l'acide α -cétoisovalérique fournit la leucine par décarboxylation et condensation avec un fragment en C_2 .

Dans le cas de l'isoleucine et de la valine, le mode de biosynthèse est indiqué dans la figure 14-8.

Récemment, les étapes aboutissant à la formation d'acide α,β -dihydroxy-isovalérique ont été élucidées. Il s'agit de la condensation d'une molécule d'acétaldéhyde et d'une molécule d'acide pyruvique en acide α -acétolactique. Cette réaction nécessite la présence de Mg^{++} et de pyrophosphate de thiamine. En présence de NADH (+H⁺) l' α -acétolactate donne l'acide α,β -dihydroxy-isovalérique.

3. Phénylalanine et tryptophane

L'existence de mutants d'*E. coli* et d'*Aerobacter aerogenes* exigeant pour leur croissance les trois acides aminés benzéniques (phénylalanine, tryptophane et tyrosine) a beaucoup aidé à éclaircir la biosynthèse de ces derniers. Ces mutants exigent non seulement un mélange des trois acides aminés benzéniques, mais ils exigent en outre, pour la plupart, la *p*-amino-benzoate, du *p*-hydroxybenzoate et un sixième facteur, non encore identifié. Un grand nombre d'observations ont été faites sur les mutants exigeants pour les acides aminés benzéniques : détermination des substances s'accumulant dans chaque cas, étude des compétitions, etc. En outre, dans l'ordre enzymologique, des études comparatives ont été faites sur la distribution

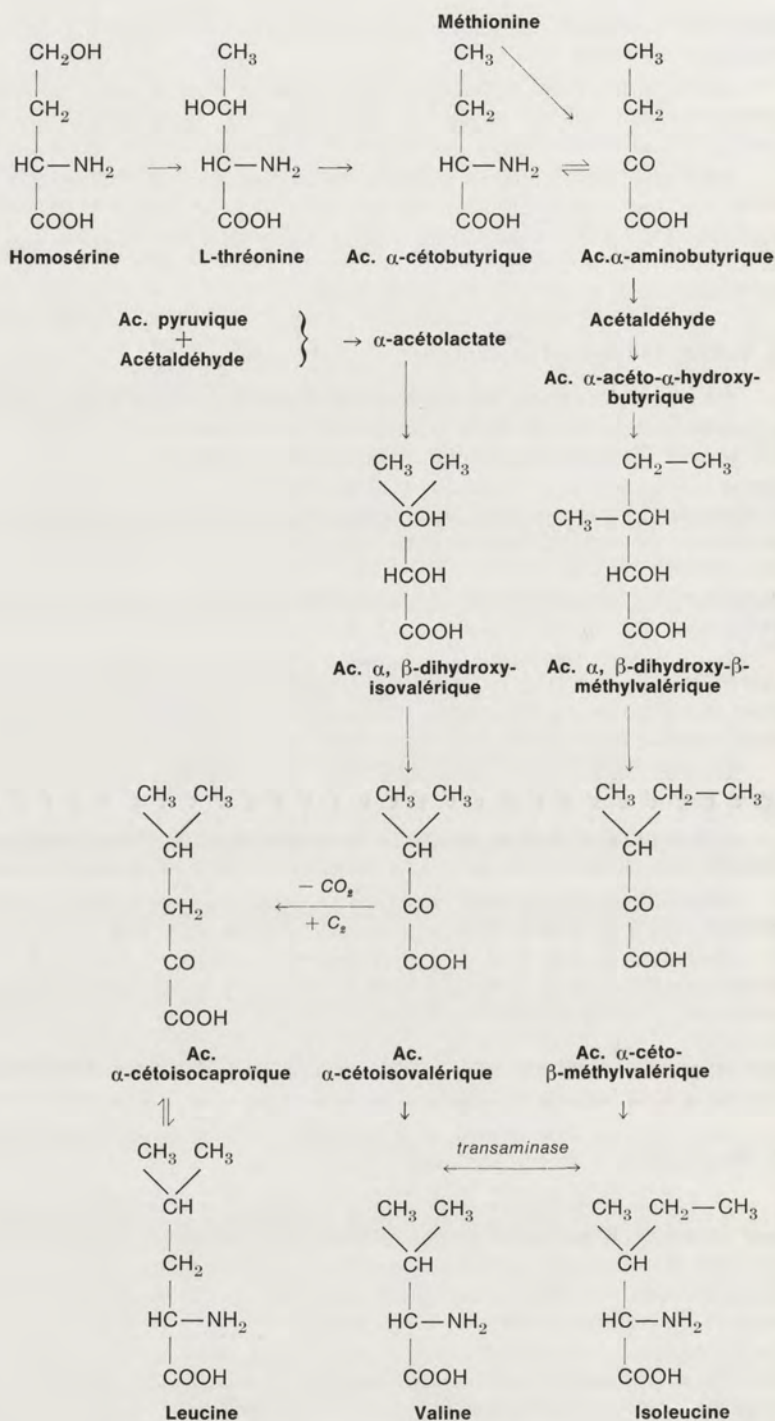


FIG. 14-8. Biosynthèse de la valine, de la leucine et de l'isoleucine.

des enzymes présents dans les tissus végétaux et les microorganismes, lesquels synthétisent le noyau benzénique, et dans les tissus animaux (qui n'en font pas la biosynthèse), et sur les cofacteurs de chaque enzyme, etc. Tous ces travaux concourent à faire admettre que les intermédiaires de la synthèse du noyau benzénique sont l'acide 5-hydroquinique, l'acide 5-déhydroshikimique et l'acide shikimique. Ils montrent en outre que le passage du glucose au noyau benzénique de la tyrosine ou de la phénylalanine ne s'opère pas à travers le cycle de Krebs. Grâce à l'emploi de glucose marqué, chez un mutant accumulateur d'acide shikimique, on a pu montrer que le carboxyle de cet acide vient des C-3 et C-4 du glucose, le C-1, des C-2 et C-5 et le C-2, des C-1 et C-6. Les quatre autres carbones sont d'origines diverses. Le sédoheptulose-1,7-diphosphate est un excellent précurseur de l'acide shikimique et il y a de bonnes raisons en faveur de la théorie qui considère le sédoheptulose comme un intermédiaire dans la synthèse des acides aminés benzéniques. Le sédoheptulose résulte lui-même de la condensation d'érythrose-4-phosphate et de phosphoenolpyruvate, ce qui explique les résultats obtenus avec le glucose marqué. La fin de la chaîne a reçu des études enzymologiques quelques éclaircissements. Ces études ont montré que l'acide préphénique est un intermédiaire sur le chemin conduisant à la phénylalanine et à la tyrosine. En outre, on trouve sur la voie de la biosynthèse de la phénylalanine l'acide phénylpyruvique.

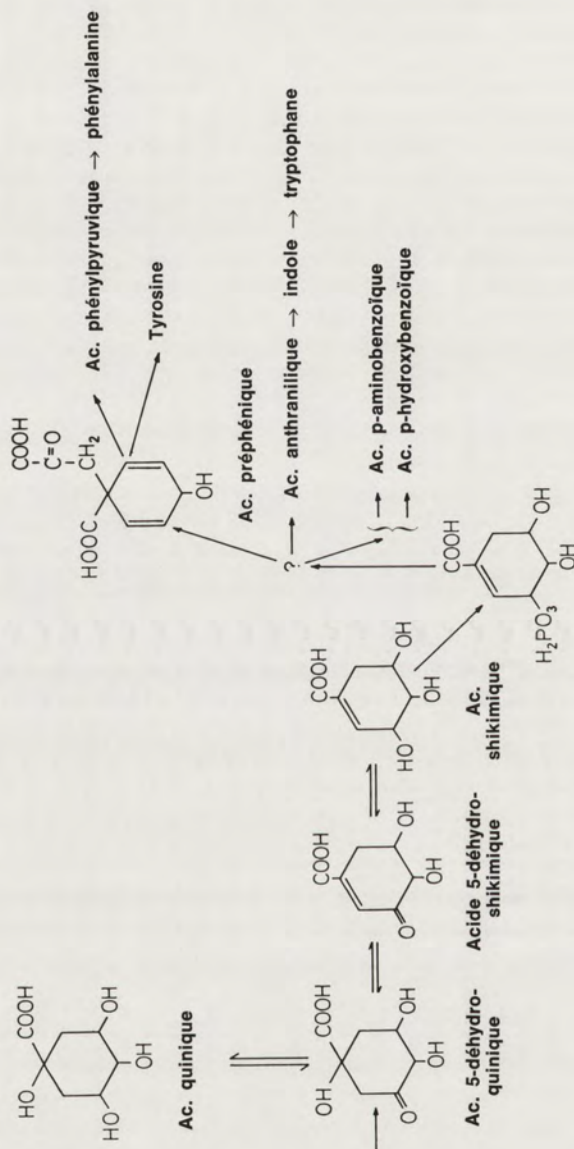
Pour ce qui est du tryptophane, après l'acide shikimique, l'acide anthranilique et l'indole sont des intermédiaires de sa synthèse. La condensation d'indole et de sérine, donnant le tryptophane, s'opère sous la catalyse d'un enzyme spécifique, la L-sérine hydrolyase, dont le pyridoxal-phosphate est le coenzyme.

Outre la voie qui vient d'être tracée, la transamination de l'indolyl-pyruvate conduit au tryptophane, mais ce n'est sûrement pas là une contribution importante à sa biosynthèse. On a aussi proposé un cycle tryptophane-cynurénine-anthranilate-indole-tryptophane. Cette voie n'est parcourue que si un excès de tryptophane est présent et elle apparaît comme purement dégradative.

4. L'histidine et la biosynthèse du noyau imidazole

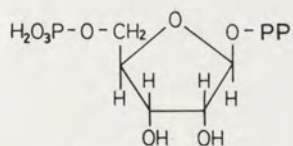
Les mutants d'*E. coli* auxotrophes pour l'histidine accumulent l'aminoolcorrespondant, ou L-histidinol. Des mutants de *Neurospora* ont été découverts, qui accumulent non seulement l'histidinol mais encore l'imidazyglycérol, l'imidazyldihydroxyacétone et leurs dérivés phosphorylés en position terminale sur la chaîne latérale. Ce sont ces dérivés phosphorylés et l'histidinol qui sont les intermédiaires de la synthèse dont l'opération terminale, celle de la conversion d'histidinol en histidine, est catalysée par un enzyme à NAD qu'on a isolé d'*E. coli*.

On peut voir que la chaîne carbonée du ribose-5-phosphate se fixe sur l'acide adénylique. Le noyau purine de ce dernier s'ouvre et après fixation d'un azote provenant de la glutamine on obtient de l'imidazyldihydroxyacétone et du 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucléotide qui est un intermédiaire dans la synthèse des purines (p. 441). Le carbone unissant les deux azotes du noyau imidazole (C-7) provient du formiate (voir métabolisme des unités à un carbone, chapitre 15, A).

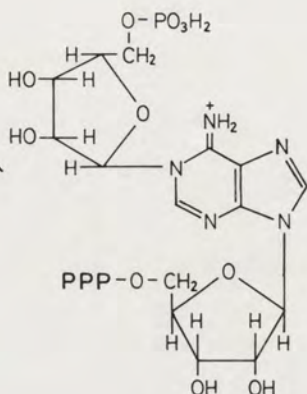
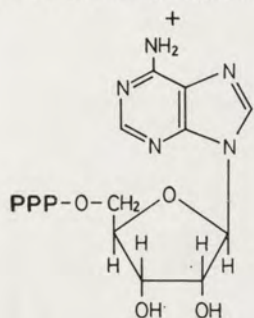


Ac. 5-phosphoshikimique

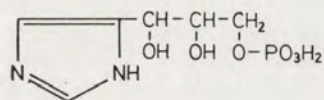
FIG. 14-9. Biosynthèse des acides aminés aromatiques (d'après Davis).



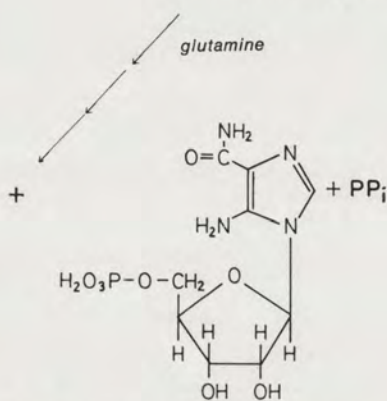
5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphate



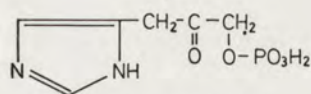
N¹-(5'-Phosphoribosyl) ATP



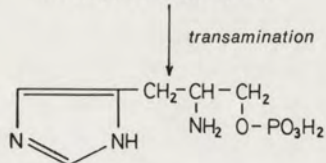
Imidazyłglycérol-phosphate



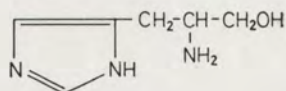
**5-Aminoimidazol-4-carboxamide
ribonucléotide**



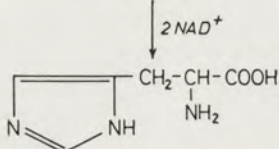
Imidazylacétoi-phosphate



Histidinol-phosphate



Histidinol



Histidine

PP = pyrophosphate ; PPP = triphosphate

FIG. 14-10. Biosynthèse de l'histidine.

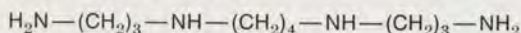
5. Lysine

La biosynthèse de la lysine forme une exception au milieu des processus généraux de biosynthèse que nous avons jusqu'à présent considérés et qu'on peut tenir comme étant, au moins dans leur schéma général, communs à toutes les cellules. Ici la biochimie comparée trouve un domaine d'étude au niveau des biosynthèses. Celle de la lysine est en effet différente chez les moisissures (*Neurospora*) et chez les bactéries (*E. coli*). Chez les premières, la source est le succinyl-CoA formé dans le cycle de Krebs, et l'acétate. Les étapes intermédiaires sont l'acide α -céto-adipique et l'acide α -aminoadipique (que nous avons trouvés dans le chemin de la dégradation de la lysine chez le rat) ; chez les bactéries, la source est l'acide aspartique et les termes intermédiaires sont indiqués dans la figure 14-11.

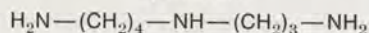
Il est intéressant de signaler que *E. coli* possède deux ATP : L-aspartate 4-phosphotransférases (kinases de l'aspartate) génétiquement indépendantes dont la synthèse est réprimée l'une par la lysine et l'autre par la thréonine.

IV. BIOSYNTHESE DES POLYAMINES

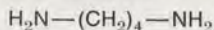
Les polyamines sont largement répandues dans la nature. Il s'agit d'un petit groupe de substances dont les représentants les plus généralement rencontrés sont les suivants :



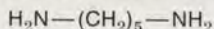
Spermidine



Spermine



Putrescine (1,4-diaminobutane)



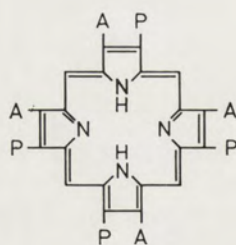
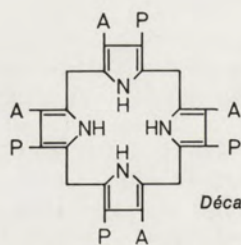
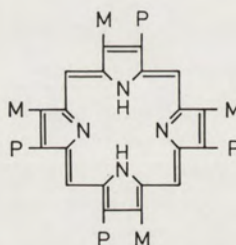
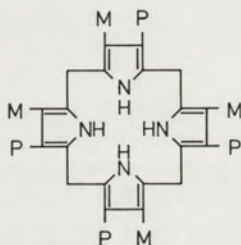
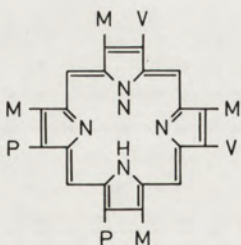
Cadavérine (1,5-diaminopentane)

La putrescine et la cadavérine sont connues depuis longtemps par leur odeur particulière : elles résultent de la dégradation des protéines au cours de la putréfaction des cadavres animaux. La cadavérine est produite par décarboxylation de la lysine alors que la putrescine est obtenue par décarboxylation de l'ornithine (p. 388).

La spermine et la spermidine sont synthétisées par de nombreux organismes ; elles sont des facteurs de croissance importants pour de nombreux microorganismes (*Hemophilus parainfluenzae*, *Aspergillus nidans*, etc.).

Chez *E. coli* la spermidine est synthétisée à partir de méthionine et de putrescine au cours d'une réaction qui implique le transfert sur la putrescine de la chaîne carbonée, incluant le groupe aminé, de la méthionine. Cette réaction de transfert s'accompagne d'une décarboxylation et la méthionine y intervient sous forme de S-adénosylméthionine.

La spermine est formée par décarboxylation d'une autre molécule de S-adénosylméthionine et condensation du produit sur la molécule de spermidine.

**Uroporphyrine III****Uroporphyrinogène III***Décarboxylation***Coproporphyrine III****Coproporphyrinogène III***Décarboxylation
Oxydation***Protoporphyrine III (n° IX)**

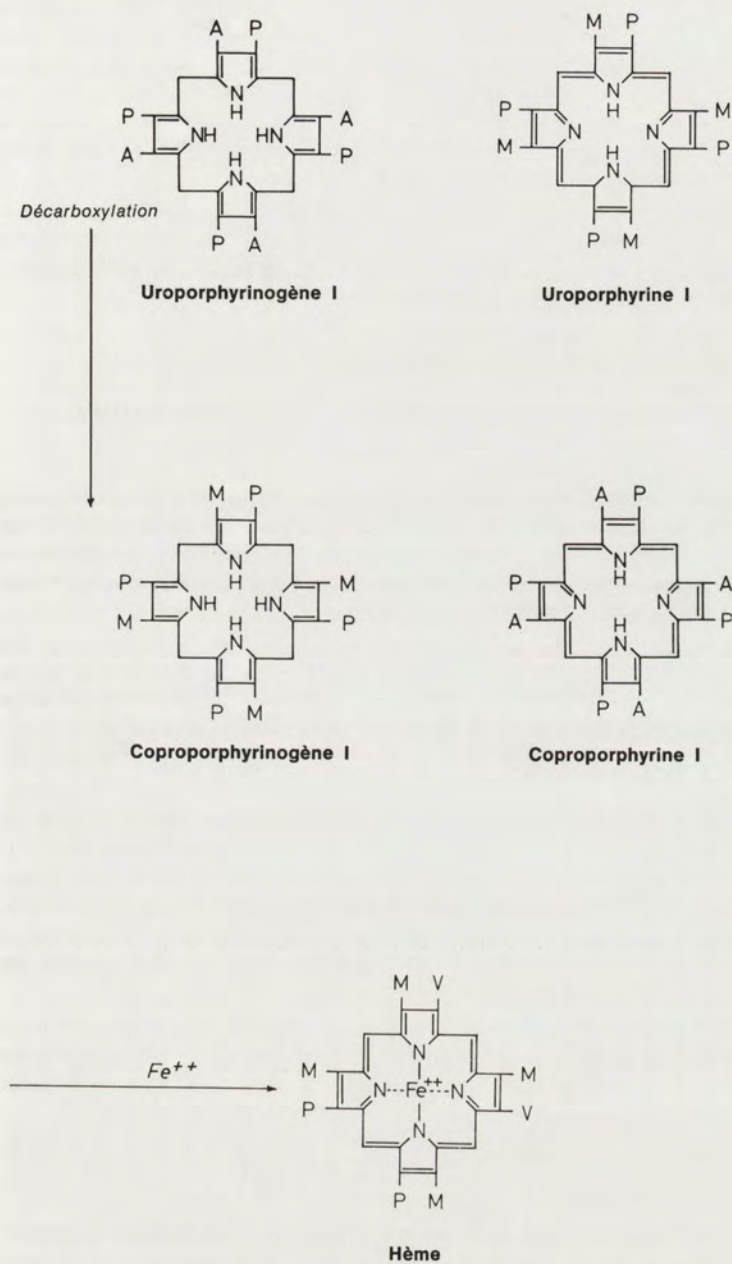


FIG. 14-13. Biosynthèse des porphyrines.

A = ac. acétique ($-CH_2-COOH$)P = ac. propionique ($-CH_2-CH_2-COOH$)M = méthyle ($-CH_3$)V = vinyle ($CH=CH_2$)

Toutes les polyamines que nous venons d'envisager sont oxydées par la diaminoxydase. Le rôle biologique des polyamines est assez mal connu. La spermine et la spermidine semblent intervenir dans les phénomènes de perméabilité des membranes de façon encore mal précisée. On sait qu'en l'absence de polyamines, les microorganismes pour lesquels elles sont des facteurs de croissance, ont une perméabilité accrue avec perte des constituants cellulaires dans le milieu.

Le gonflement des mitochondries isolées et placées dans divers milieux est également empêché en présence de polyamines. Enfin signalons que ces substances paraissent être des constituants normaux et indispensables au bon fonctionnement des ribosomes.

V. GLYCOCOLLE ET BIOSYNTHÈSE DES PORPHYRINES

Le glyocolle est une molécule jouant un rôle important dans diverses voies métaboliques. Il intervient dans la synthèse de la sérine (p. 409) de l'acide hippurique (p. 437) et des purines (p. 440). Une autre contribution importante de cette molécule dans les voies de l'anabolisme primaire est son rôle dans la biosynthèse des porphyrines.

La biosynthèse des porphyrines débute au niveau du glyocolle et du succinyl-CoA dérivé du cycle de Krebs. L'acide δ -aminolévulinique et le porphobilinogène sont situés sur cette voie comme l'indique le schéma de la figure 14-12.

La première réaction dans la synthèse des porphyrines est la formation d'acide α -amino- β -cétoadipique qui est décarboxylé en acide δ -aminolévulinique. Cette réaction a lieu dans la mitochondrie et nécessite le phosphate de pyridoxal. Deux molécules de cet acide sont associées au cours d'une étape catalysée par l'hydro-lyase du δ -aminolévulinate (E. N. 4.2.1.24) et qui comprend une déshydratation suivie d'une cyclisation.

Quatre molécules de porphobilinogène sont utilisées dans la synthèse des porphyrines (Fig. 14-13) ce qui signifie que tous les atomes d'azote de cette molécule proviennent du glyocolle.

L'usage d'isotopes du carbone a permis de montrer que huit carbones proviennent du glyocolle. Quatre donnent le carbone 2 de chaque noyau pyrrole et quatre constituent les ponts méthylènes unissant les noyaux pyrrole. Les vingt-six carbones restants proviennent du succinyl-CoA.

La condensation des quatre molécules de porphobilinogène est catalysée par une désaminase et implique l'existence d'un intermédiaire hypothétique, le polypyrryl-méthane.

L'uroporphyrinogène I est incolore mais par un processus d'autooxydation il peut former l'uroporphyrine I qui est un pigment de l'urine des mammifères.

Le coproporphyrinogène I résulte de la décarboxylation de l'uroporphyrinogène I, son oxydation donne la coproporphyrine I.

En présence d'une isomérase, le polypyrryl-méthane donne l'uroporphyrinogène III qui, à la suite des réactions d'oxydation ou de décarboxylation aboutit aux produits indiqués dans la figure 14-13.

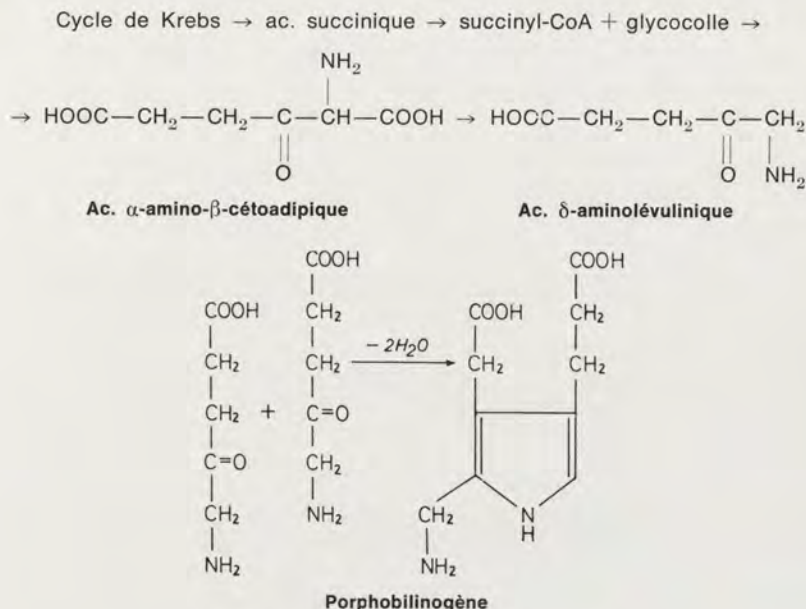


FIG. 14-12. Synthèse du porphobilinogène.

L'introduction du fer dans la protoporphyrine III a pour résultat la formation d'hème, celle du magnésium donne une protoporphyrine magnésienne qui est à l'origine de la chlorophylle.

Les végétaux prolongent la biosynthèse des porphyrines à travers la branche ferreuse et la branche magnésienne tandis que cette dernière fait défaut aux animaux. Toutefois ces derniers ont développé particulièrement la branche ferreuse dans le sens de la biosynthèse du dérivé d'hème et de globine portant le nom d'hémoglobine.

A CONSULTER

- STEINER, R. F., The chemical foundations of molecular biology. Van Nostrand, Princeton, 1965.
- COHEN, P. P., Estimation in animal transaminases, in S. P. Colowick et N. O. Kaplan : Methods in Enzymology, Vol. 2. Academic Press, New York, 1955.
- DAVIS, B. D., Adv. in Enzymology, 1955, **16**, 247.
- DAVISON, A. N., Physiol. Revs, 1958, **38**, 729.
- ROWSELL, E. V., Transaminases in animal tissue homogenates, in S. P. Colowick et N. O. Kaplan : Methods in Enzymology, Vol. 5. Academic Press, New York, 1962.
- SHEMIN, D., The succinate-glycine cycle, in W. D. McElroy et H. Bentley Glass : A symposium on amino acid metabolism. Johns Hopkins Press, Baltimore, 1955.
- Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 2 (1960), 4 (1962), 5 (1963). Academic Press, New York.
- Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 6 (1965), 9 (1963), 15 (1964). Elsevier Publishing Co., Amsterdam.
- Metabolic pathways, 2nd edition of Chemical pathways of metabolism (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 2. Academic Press, New York, 1961.
- Traité de biochimie générale (Publié sous la direction de M. Javillier, M. Polonovski, M. Florkin, P. Boulanger, M. Lemoigne, J. Roche et R. Wurmser). Vol. 1, Fasc. 1. Masson, Paris, 1959.

ROYAL ANTHROPOLOGICAL INSTITUTE

Volume 100, Part 1, 1970

Edited by J. H. REES

1970

177-178 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

179-180 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

181-182 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

183-184 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

185-186 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

187-188 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

189-190 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

191-192 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

193-194 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

195-196 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

197-198 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

199-200 *Journal of the Royal Anthropological Institute* 1970

CHAPITRE 15

Anabolisme primaire et anabolisme secondaire

I. Les matériaux des biosynthèses	428
II. Les biosynthèses	429
A. Biosynthèse des architectures chimiques simples	429
1. Utilisation du CO_2	429
a) β -carboxylation	429
b) α -carboxylation	431
2. Biosynthèse du groupe méthyle et transméthylations	431
a) biosynthèse du groupe $-\text{CH}_3$	431
b) transméthylations	432
B. Voies du métabolisme primaire	433
1. Biosynthèse des oses	434
2. Biosynthèse des pentose-phosphates	434
3. Biosynthèse des liaisons osidiques	435
4. Biosynthèse des polysaccharides	435
a) synthèse du glycogène	435
b) synthèse de l'amylopectine	437
c) synthèse des liaisons β des polysaccharides	437
5. Biosynthèse des liaisons peptidiques et amidiques	437
6. Biosynthèse de certains coenzymes	438
7. Biosynthèse des purines, des pyrimidines, des nucléosides et des nucléotides	440
a) noyau de la purine	440
b) noyau de la pyrimidine	442
c) biosynthèse des nucléosides à partir des bases puriques ou pyrimidiques	443
d) interconversion des nucléosides par transfert	443
e) interconversion des nucléosides et des nucléotides par des réactions autres que des transferts	443
8. Biosynthèse des coenzymes dérivés des nucléotides pyridiniques	444

C. Voies du métabolisme secondaire	445
1. Chimie des isoprénoïdes (terpènes)	445
a) terpènes inférieurs	445
b) caroténoïdes	445
2. Chimie des isoprénoïdes (dérivés naturels du phénanthrène)	452
a) stérols	453
b) acides biliaires	455
c) autres stéroïdes naturels	455
3. Biosynthèse des isoprénoïdes	456
a) passage de l'acétate libre à l'acétate actif	456
b) condensation de C_2 en acétoacétyl-CoA.	456
c) synthèse de l'acide mévalonique	457
d) synthèse des polyisoprènes	459
e) cyclisation des chaînes de polyisoprènes	460
4. Polycétides	463
5. Métabolites de l'acide shikimique	463
6. Biosynthèse des alcaloïdes et des autres dérivés d'acides aminés	466
D. Le principe d'économie biosynthétique	470

Le métabolisme des organismes présente une phase catabolique et une phase anabolique. Les molécules glucidiques traversent la séquence métabolique de la glycolyse jusqu'au stade du pyruvate qui, dans les conditions d'anaérobiose, fournit de l'alcool éthylique ou de l'acide lactique, tandis qu'en présence d'oxygène, il conduit à l'acétyl-CoA (unité C_2) que les réactions du cycle des acides tricarboxyliques amènent au stade de CO_2 et H_2O . Les acides gras catabolisés produisent aussi, par la voie du cycle de Lypn, de l'acétyl-CoA qui peut pénétrer dans le cycle de Krebs. Dans le cas des acides aminés, les acides cétoniques résultant de leur désamination sont introduits en divers points du schéma catabolique décrit ci-dessus, au cours duquel sont produites les molécules d'ATP où est mise en réserve l'énergie qui sera utilisée dans le travail cellulaire.

L'un des aspects de ce travail est la biosynthèse des constituants cellulaires, alimentée à un pool d'unités de petit volume résultant du catabolisme des glucides, des lipides et des protides, que ces dernières soient d'origine alimentaire ou d'origine cellulaire. Les deux premières colonnes de la figure 15-1 donnent une idée des formes du catabolisme et de l'anabolisme primaire dans un grand nombre d'espèces cellulaires (bien que souvent l'un ou l'autre aspect manque, ce qui donne naissance à de nouveaux « besoins chimiques », satisfaits par la présence, dans la matière empruntée à l'extérieur de la cellule, de molécules définies). L'unité de

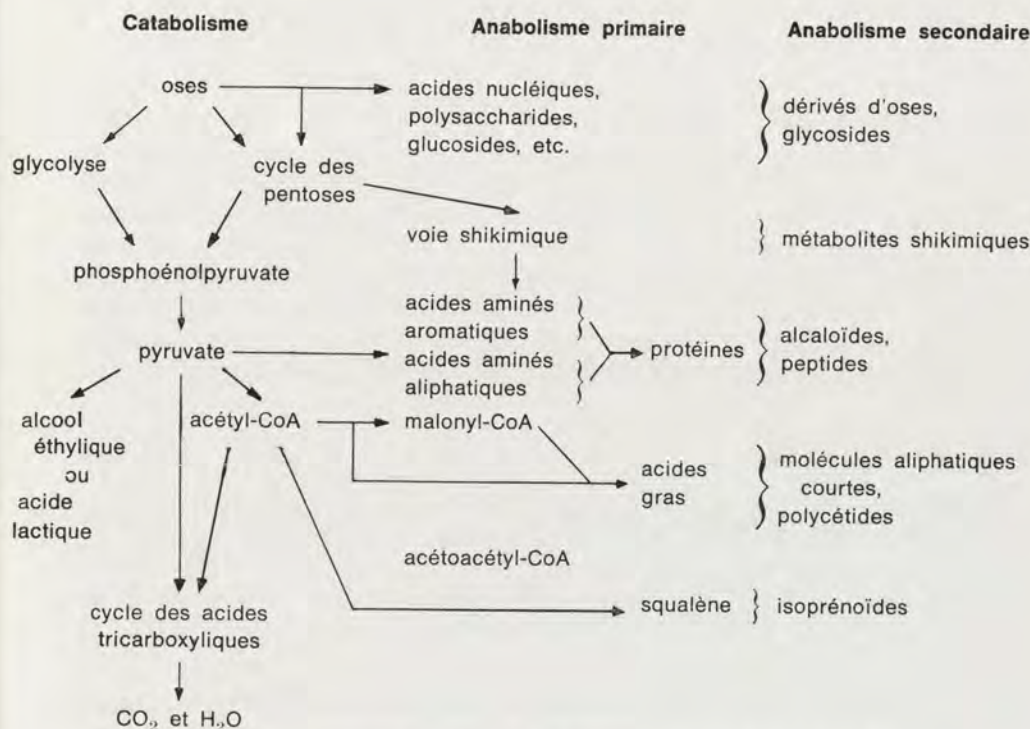


FIG. 15-1. L'anabolisme primaire et secondaire et ses relations avec le catabolisme (d'après Bu'Lock, modifié).

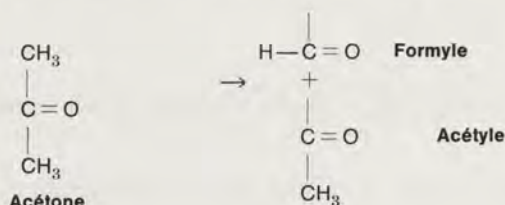
plan biochimique des cellules trouve une de ses expressions dans ce schéma de catabolismes et d'anabolismes primaires, qu'on trouve partout et qui apparaissent comme indépendants de la nature des espèces, genres, familles, etc., des organismes.

Si le catabolisme et l'anabolisme primaires offrent un aspect de l'unité biochimique des cellules et des organismes dont elles font partie, l'anabolisme dit secondaire est le siège de la plus grande diversité et c'est à son niveau que règnent des correspondances avec les espèces, genres, familles, etc., des organismes. Les produits de l'anabolisme secondaire sont synthétisés dans des groupes plus ou moins étendus de la systématique. Ils peuvent n'être synthétisés que pendant certaines phases de la vie des organismes, ou seulement au sein de certaines différenciations cellulaires. Du point de vue biologique, on peut reconnaître à ces molécules, dans de nombreux cas, une signification adaptative, soit qu'elles exercent une fonction dans les relations entre organismes, soit qu'elles contribuent à l'élimination d'un produit d'excrétion, que cette élimination s'opère à l'extérieur ou que le produit, forme non nocive, s'accumule à l'intérieur de l'organisme. Dans d'autres cas, on ne leur a jusqu'à présent reconnu aucune signification.

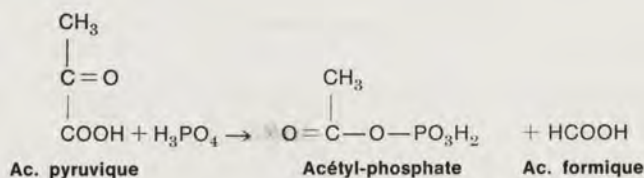
Les voies métaboliques conduisant à la synthèse des produits secondaires se greffent en l'un ou l'autre point du catabolisme ou de l'anabolisme primaire.

I. LES MATÉRIAUX DES BIOSYNTHÈSES

Il existe une série de matériaux à un atome de carbone. Et tout d'abord le CO_2 , libéré en de nombreux points du système d'amorçage. Mais le plus important matériau de cette catégorie est ce qu'on appelle le « formiate » (C_1), c'est-à-dire $\text{CHO}-$ ou formyle actif, en quoi peuvent être convertis non seulement l'acide formique, le formaldéhyde et le méthanol, mais encore le C- α du glycolle, le C- α de l'acide glycolique, les C- α et C- β de la sérine, le C- α de la thréonine, le C-2 de l'histidine, le C-2 du tryptophane, le C- β et le C-6 (ou C-2) de la phénylalanine et de la tyrosine, etc. L'acétone peut être scindée en un fragment acétyle et un fragment formyle.



Chez certaines bactéries (mais pas chez les mammifères), l'acide pyruvique subit une scission en acétyl-phosphate et acide formique (réaction phosphoroclastique), lequel fournit des unités C_1 .



Il existe des matériaux à un atome de carbone, non seulement sous les formes oxydées telles que CO_2 et C_1 , mais aussi sous la forme réduite du groupement méthyle labile (CH_3-). Ces méthyles labiles peuvent donner des unités C_1 et tirer leur origine d'unités C_1 .

Par oxydation, on peut passer de C_1 à CO_2 , mais la réaction inverse est impossible, au moins chez les mammifères.

Le glycolle est aussi un matériau utilisé. Il s'agit de molécules de glycolle venant des protéines de l'alimentation, ou provenant de la dégradation de la sérine ou de la thréonine, ou encore provenant de la synthèse à partir d'acide pyruvique.

En outre, les biosynthèses puisent des matériaux d'ordre plus élevé en différents points des réactions du catabolisme, et en particulier à différentes étapes du cycle des acides tricarboxyliques.

II. LES BIOSYNTHÈSES

A. BIOSYNTHÈSE DES ARCHITECTURES CHIMIQUES SIMPLES

1. Utilisation du CO_2 (excepté l'assimilation par les autotrophes) pour constituer des liaisons —C—C—

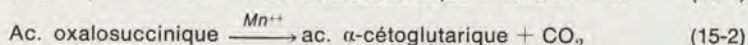
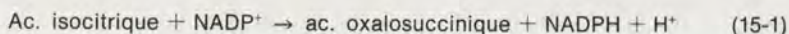
Elle consiste essentiellement en l'inverse des décarboxylations réversibles (p. 389) des acides cétoniques. On considérera donc les β -carboxylations, c'est-à-dire des carboxylations inverses de la décarboxylation d'un acide β -cétonique (oxaloacétique ou oxalosuccinique) et les α -carboxylations, c'est-à-dire des carboxylations inverses de la décarboxylation d'un acide α -cétonique.

a) β -carboxylation

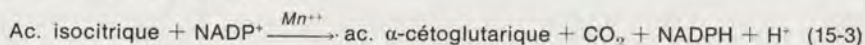
Cette fixation du CO_2 est la plus importante. Deux exemples sont fournis par la fixation du CO_2 par l'acide pyruvique, avec formation d'acide oxaloacétique, mécanisme de synthèse des acides dicarboxyliques, et par la fixation du CO_2 par l'acide α -cétoglutarique, source de la synthèse des acides tricarboxyliques.

i) Fixation de CO_2 par l'acide α -cétoglutarique

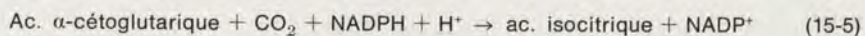
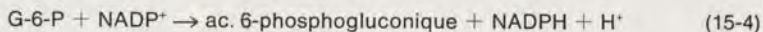
La conversion de l'acide isocitrique en acide α -cétoglutarique et CO_2 dans le cycle de Krebs comporte deux réactions différentes, comme Ochoa l'a montré :



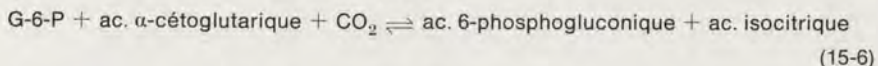
La somme de (1) et (2) étant



On peut faire se dérouler la réaction (15-3) de droite à gauche en la liant à un système d'oxydo-réduction capable de réduire NADP, par exemple le système de la déshydrogénase du glucose-6-phosphate, et on obtient



La somme de (15-4) et (15-5) donne



Si on ajoute de l'acotinase, l'équilibre est encore davantage déplacé vers la fixation de CO_2 , car on enlève alors constamment 90 % de l'acide isocitrique. Comme les systèmes enzymatiques qui sont décrits ci-dessus sont universellement répandus dans les cellules, aussi bien chez les animaux et chez les végétaux, que chez les micro-organismes, ce système de fixation joue un rôle important.

ii) Fixation de CO_2 par l'acide pyruvique

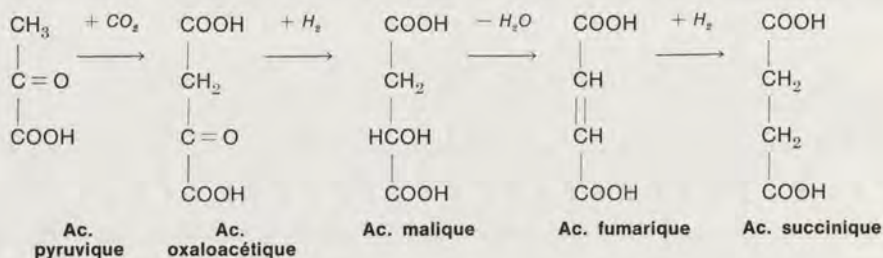
L'entrée de l'acide pyruvique dans le cycle des acides tricarboxyliques par la voie de l'acétyl-CoA, puis par celle de la formation d'acide citrique dépend d'une concentration suffisante de l'acide oxaloacétique. Cette concentration est entretenue par la fixation de CO_2 sur le pyruvate avec formation d'oxaloacétate.

Dès que les acides en C_4 sont épuisés, le CO_2 devient essentiel au déroulement de la respiration par la voie du cycle de Krebs.

D'autre part, s'il est vrai que l'acétate (C_2) n'entre dans le cycle que par la formation d'acétyl-CoA impliquant la consommation d'ATP, le pyruvate (C_3), par décarboxylation oxydative, donne, sans intervention d'ATP, mais avec une réduction simultanée de NAD, de l'acétyl-CoA qui entre dans le cycle.

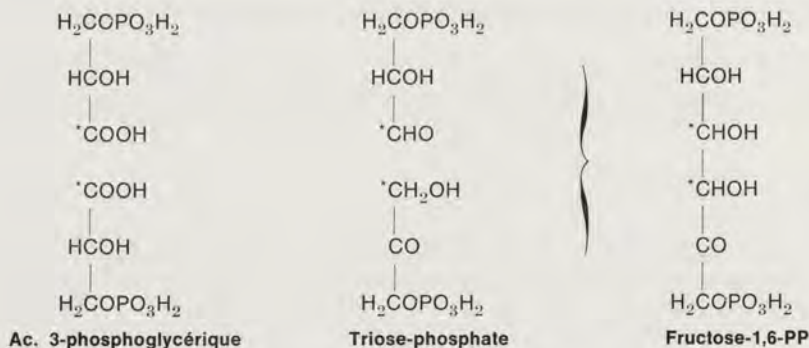
Les bactéries propioniques ont été le siège de la découverte de la fixation de CO_2 par les hétérotrophes (Wood et Werkman). Chez ces bactéries, pendant la fermentation du glycérol, le CO_2 est utilisé pour fournir de l'acide succinique. Chez *E. coli*, la vitesse de formation du succinate en présence de pyruvate dépend de la pression de CO_2 .

Le CO_2 apparaît dans le succinate selon les réactions suivantes :



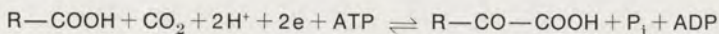
L'utilisation de carbone marqué a montré que le CO_2 fixé sur le pyruvate contribue à la synthèse glucidique chez les hétérotrophes. Par exemple, le glycogène du foie des animaux contient des atomes de carbone dérivés du CO_2 : ceux qui occupent dans l'unité hexose les positions 3- et 4-.

Ceci prouve que la glycolyse est partiellement réversible, le CO_2 étant utilisé pour former un triose-phosphate en passant par l'acide 3-phosphoglycérique.



b) α -carboxylation

Elle s'accomplit par inversion de la décarboxylation oxydative des acides α -cétoniques. L' α -carboxylation (fournissant par exemple de l'acide pyruvique ou de l'acide α -cétoglutarique), contrairement à la β -carboxylation, implique l'intervention d'ATP, la réaction générale étant

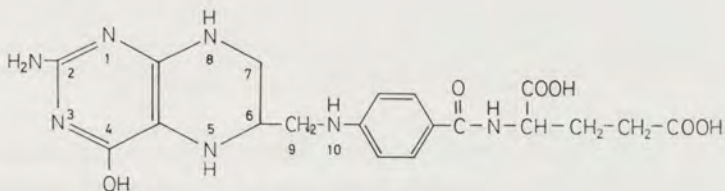


La réversibilité de la décarboxylation oxydative des acides α -cétoniques doit être considérée comme possible, mais non comme établie.

2. Biosynthèse du groupe méthyle et transméthylations

a) Biosynthèse du groupe $-CH_3$

L'acide tétrahydrofolique

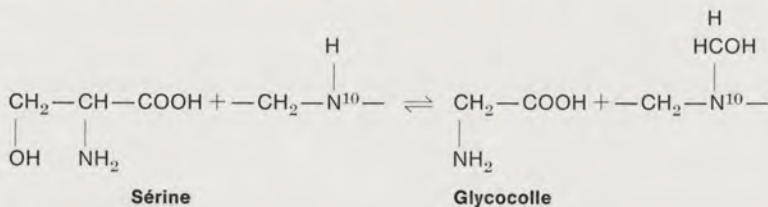


Acide tétrahydrofolique

est le coenzyme intervenant dans le transfert d'unités C_1 . Les atomes d'azote en position 5 et 10 sont les sites actifs de cette molécule. A partir d'acide formique on a, en présence d'ATP, la formation d'acide N¹⁰-formyl-tétrahydrofolique

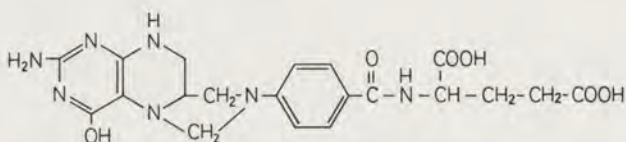


En présence de donneurs d'unités C_1 , la sérine par exemple, on a, au cours d'une première réaction, fixation du carbone sur N¹⁰ :



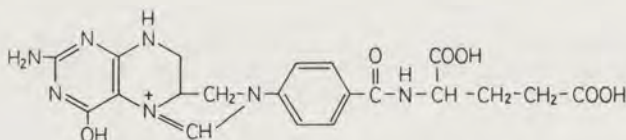
avec pour conséquence la formation d'acide N¹⁰-hydroxyméthyltétrahydrofolique. Ce composé se cyclise rapidement entre les azotes N⁵ et N¹⁰ avec

perte d'une molécule d'eau pour former l'acide N⁵, N¹⁰-méthylènetétrahydrofolique :



Acide N⁵, N¹⁰-méthylènetétrahydrofolique

L'oxydation de cette molécule par NADP aboutit à la formation d'acide N⁵, N¹⁰-anhydroformyltétrahydrofolique qui est le donneur universel d'unités C₁ :



Acide N⁵, N¹⁰-anhydroformyltétrahydrofolique

L'acide N⁵, N¹⁰-méthylènetétrahydrofolique peut subir une réduction par l'intermédiaire d'une flavoprotéine avec pour conséquence la transformation de la fonction méthylène en groupe méthyle fixé sur N⁵.

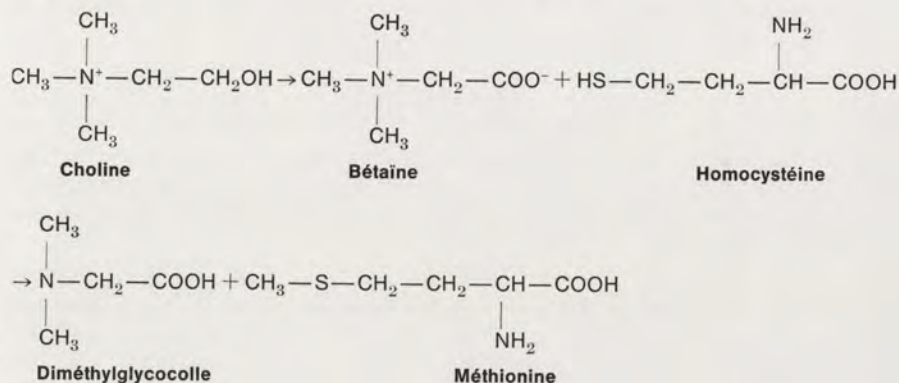
L'acide N⁵-méthyltétrahydrofolique ainsi formé est le donneur de méthyle intervenant dans la synthèse de la méthionine et de la thymine. La réaction nécessite la présence d'ATP et est catalysée par un enzyme requérant la cyanocobalamine.

b) Transméthylations

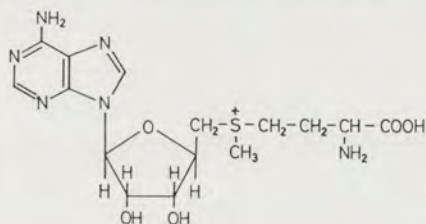
On appelle ainsi le transfert d'un groupe méthyle d'une molécule à une autre. Pour distinguer les méthyles fixés par transméthylation, des méthyles d'autres origines, on donne aux composés contenant un méthyle qui y a été fixé par ce procédé, le nom de composés à méthyle labile. Tels sont la choline, la méthionine, la glycolle-bétaïne, la sarcosine, l'adrénaline, l'ansérine, la méthylnicotinamide, la créatine, le diméthylglycolle, etc.

Un composé à méthyle labile n'est pas nécessairement capable de donner ce méthyle à un accepteur. A ceux qui peuvent accomplir cet abandon, on donne le nom de donneurs de méthyle. La choline, la glycolle-bétaïne et la méthionine sont des exemples appartenant à cette catégorie. En dernière analyse, c'est toutefois de la méthionine que le méthyle labile passe à l'accepteur. La choline, libérée des lécithines par exemple, est oxydée en bétaïne qui, en présence d'une méthyltransférase spécifique (bétaïne : L-homocystéine S-méthyltransférase, E. N. 2.1.1.5) cède

un groupe méthyle à l'homocystéine avec pour résultat la formation de méthionine.

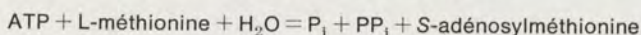


La méthionine intervient dans les réactions de transméthylation sous forme d'un dérivé sulfonium dont l'énergie libre d'hydrolyse est voisine de 8 Kcal M⁻¹. Ce dérivé, la S-adénosylméthionine



S-adénosylméthionine

est formé en présence d'ATP au cours d'une réaction catalysée par l'adényltransférase de la méthionine (E. N. 2.5.1.6) :



C'est donc toujours de la méthionine que le méthyle labile passe à l'accepteur.

B. VOIES DU MÉTABOLISME PRIMAIRE

Dans les chapitres qui précèdent nous avons présenté les voies principales du métabolisme primaire.

Il y a néanmoins des séquences anaboliques qui n'ont pas été décrites, en dépit du fait que les molécules résultant de leur activité sont d'utilisation générale dans la biosphère.

Dans les pages qui suivent on trouvera l'essentiel de ce qu'il faut savoir à propos de ces voies métaboliques.

1. Biosynthèse des oses

Le processus majeur de la synthèse des oses dans la nature est la synthèse autotrophe que nous étudions aux chapitres 13 et 19.

Toutefois la synthèse de molécules d'oses s'accomplit de façon générale dans les cellules, par inversion des réactions d'amorçage. C'est ainsi qu'un acide gras peut dans certaines catégories de cellules donner de l'acétyl-CoA qui ne pénètre pas dans le cycle des acides tricarboxyliques, mais suit la chaîne glycolytique du glucose renversée, avec remplacement des chaînons non réversibles par des réactions synthétiques dont les enzymes sont indiqués dans la figure 11-2.

Les acides aminés peuvent aussi donner des molécules d'hexoses et ce caractère « glucogénique » est particulièrement clair dans le cas des acides aminés qui pénètrent dans les réactions d'amorçage au niveau de l'acide α -cétoglutarique ou de l'acide pyruvique. Les acides aminés, pénétrant au niveau de l'acétoacétate peuvent aussi, généralement, suivre la même voie, mais il leur arrive de provoquer une accumulation d'acide acétoacétique et d'autres corps « cétoniques ». Ils peuvent ainsi être « céto-géniques ».

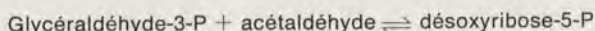
Quant à la biosynthèse des pentoses, nous avons déjà montré qu'elle peut s'accomplir au cours du shunt des hexose-monophosphates (p. 286). D'autres aspects de cette biosynthèse sont considérés ci-dessous.

2. Biosynthèse des pentose-phosphates

Le D-ribose-5-phosphate est formé comme nous l'avons vu, à partir du G-6-P dans le shunt des hexose-monophosphates.

Une autre méthode est la condensation d'unités C_2 et C_3 réalisant la biosynthèse des esters phosphoriques des pentoses et des désoxypentoses et en particulier du désoxyribose.

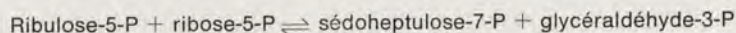
La réaction réversible suivante



est une aldolcondensation réversible, catalysée par la désoxyriboaldolase (E. N. 4.1.2.4). Cet enzyme a été préparé à partir d'*E. coli*, et de nombreux tissus animaux et le désoxyribose-5-P formé au cours de cette réaction pénètre dans les nucléosides.

En ce qui concerne le métabolisme des pentose-phosphates, les réactions principales sont des réactions de transaldolisation et de transcétolisation.

Une transcétolase (E. N. 2.2.1.1) a été isolée des tissus végétaux de même que des tissus animaux et elle catalyse la réaction suivante :



L'enzyme est peu spécifique et il attaque aussi le ribulose-5-P, le sédoheptulose-7-P, le L-érythrulose, l'hydroxypyruvate et le fructose-6-P.

Il s'opère une rupture de la liaison céto et le « glycolaldéhyde actif » qui est formé se condense avec un aldéhyde accepteur. Quand l'accepteur est le glyceraldéhyde-3-P, il se forme du ribulose-5-P.

3. Biosynthèse des liaisons osidiques

Bien que, théoriquement, les enzymes hydrolysant les liaisons osidiques soient capables de catalyser la liaison inverse de synthèse, cette dernière n'est pas à considérer en fait.

Dans le cas du saccharose, par exemple, l'action de l'invertase s'accomplit à peu près complètement de gauche à droite. L'une des substances intervenant dans la réaction, l'eau, ayant une concentration énormément prédominante, la réaction d'hydrolyse du saccharose est en pratique irréversible.

La synthèse des osides s'opère en fait à partir de leurs dérivés phosphorylés.

Chez les végétaux, elle résulte de la condensation et de la déphosphorylation simultanée d'une molécule de glucose phosphorylé et d'une molécule de fructose phosphorylé, en présence de phosphorylase du saccharose. Il existe un système, qu'on a isolé à partir de diverses bactéries et qui, en présence de G-1-P et de D-fructose, condense ces deux molécules en saccharose avec élimination d'acide phosphorique. Cette phosphorylase du saccharose est capable de combiner avec le glucose, par exemple, un aldose, le L-arabinose avec formation d'une liaison osidique 1-3. Elle est donc peu spécifique de la deuxième moitié de la molécule. D'autre part, cette saccharose-phosphorylase est capable d'utiliser comme donneur de glucose, dans la formation du saccharose, d'autres sources que le G-1-P. Elle est donc aussi une *transglucosidase* capable de transférer le glucose venant de donateurs divers, à des accepteurs divers.

4. Biosynthèse des polysaccharides

a) Synthèse du glycogène

Comme nous l'avons dit, le glycogène est un polymère ramifié dont l'unité est le D-glucose. Quatre enzymes sont nécessaires pour la dégradation du glycogène en glucose, et pour la synthèse du glycogène à partir du glucose. Deux de ces enzymes agissent aussi bien dans un sens que dans l'autre, mais deux autres sont caractéristiques du sens de la réaction, comme le montre la figure 15-2.

La première étape de la synthèse est la phosphorylation par l'intermédiaire de l'ATP, l'hexokinase étant présente comme catalyseur. C'est ici que se produit la dépense majeure d'énergie : une liaison riche de pyrophosphate (8 Kcal M^{-1}) forme une liaison glucose-6-phosphate (3 Kcal M^{-1}) et par cette réaction en pratique irréversible, la molécule de glucose est activée et préparée à diverses séquences métaboliques. Dans le cas qui nous occupe, sous l'action de la phosphoglucomutase, il s'établit un équilibre entre G-6-P et G-1-P : en fait cet état d'équilibre fait partie du *steady state* des cellules et varie d'une cellule à l'autre selon ce *steady state*.

Dans une troisième étape, deux enzymes entrent simultanément en action : la phosphorylase et l'enzyme ramificateur. La portion glucose d'une molécule de glucose-1-phosphate s'ajoute au résidu glucose terminal d'une chaîne, avec perte de phosphate : le phosphate en C-1 est échangé contre une liaison osidique avec le quatrième atome du résidu terminal de glucose : il y a peu de changement d'énergie libre. Dans cette synthèse, les deux substrats sont donc le glycogène d'une part et le glucose-1-phosphate d'autre part. C'est le rapport des concentrations de phosphate inorganique et de glucose-1-phosphate qui commande le sens de la réaction. Comme, au pH 7.0, le rapport d'équilibre de la réaction réversible est de 3.2, la synthèse de glycogène s'opérera s'il y a plus d'une molécule de glucose-1-phosphate pour trois molécules de phosphate inorganique. Les facteurs diminuant la concentration des phosphates inor-

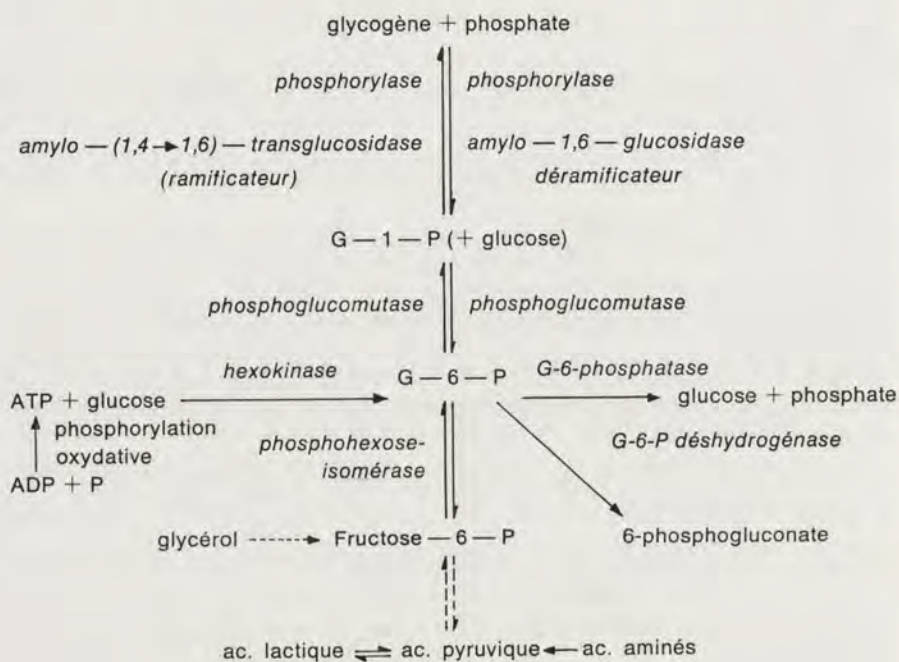


FIG. 15-2. Schéma de la synthèse et de la dégradation du glycogène dans le foie (d'après G. Cori).

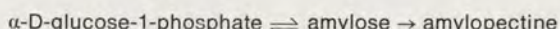
ganiques auront donc tendance à favoriser la synthèse. Quand, dans la structure ramifiée de la macromolécule de glycogène, il s'est formé un rameau latéral de 8 unités glucose, un nouvel enzyme entre en jeu. C'est une α -1,4-glucan : α -1,4-glucan 6-glucosyltransférase (E.N. 2.4.1.18) qui transforme une liaison 1,4 en liaison 1,6 et opère une bifurcation. Cet enzyme était anciennement appelé « enzyme Q » ou « enzyme ramifiant ».

On voit donc que si la concentration du glycogène dans une cellule peut être influencée par les enzymes et par les hormones ou d'autres régu-

lateurs éventuels, la structure de la macromolécule du glycogène est une traduction du rapport des activités respectives de la phosphorylase, du ramificateur et du déramificateur.

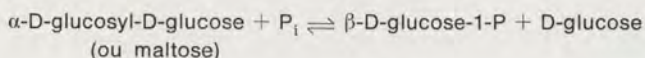
b) Synthèse de l'amylopectine

L'enzyme qui catalyse la ramification est une transglucosidase qui convertit 5 % des liaisons 1-4 de l'amylose en 1-6. Il n'entre en jeu que lorsque quarante-deux résidus de glucose au moins ont été unis en amylose. La réaction de formation est la suivante :



c) Synthèse des liaisons β des polysaccharides

On connaît un enzyme qui au cours de la synthèse d'une liaison osidique accomplit une inversion du type de liaison.



Ceci montre la possibilité de la formation de saccharides complexes à liaisons β par l'intervention d'enzymes transglucosidants.

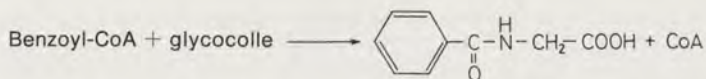
5. Biosynthèse des liaisons peptidiques et amidiques

L'acide hippurique dérive chez les animaux de l'acide benzoïque et du glyocolle, associés par une liaison amide secondaire comparable à une liaison peptidique, dont la formation a été bien étudiée.

Ce mécanisme exige ATP comme donneur d'énergie et utilise le coenzyme A comme agent acylant (cfr la synthèse de l'acétylcholine, p. 209).



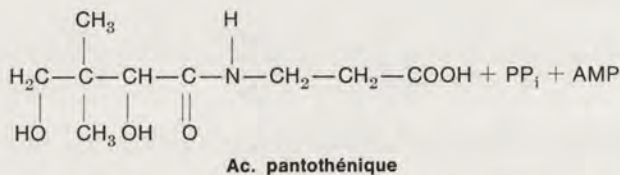
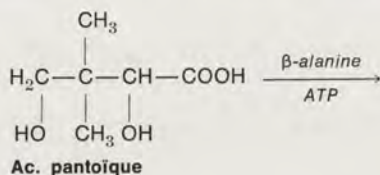
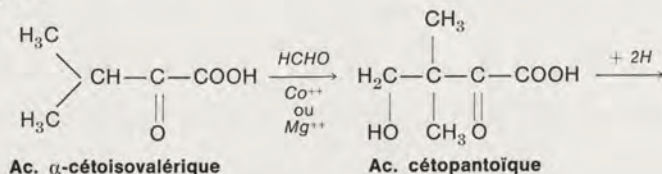
Acide benzoïque



Acide hippurique

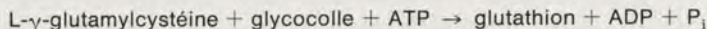
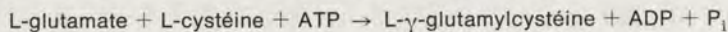
Un deuxième type de synthèse de liaison amide secondaire est fourni par la synthèse d'un constituant du coenzyme A, l'acide pantothénique. Cet acide est synthétisé par la plupart des microorganismes et des plantes vertes. Beaucoup de mammifères en sont incapables, c'est pourquoi il est nécessaire de fournir cette molécule dans le régime afin de permettre la

synthèse du coenzyme A. La voie biosynthétique débute à l'acide α -cétoisovalérique :



Comme dans le cas précédent, il y a hydrolyse de l'ATP en AMP et PP_i mais pas d'utilisation du CoA.

On connaît depuis longtemps un tripeptide répandu dans les cellules animales et végétales : le glutathion. Il s'agit du γ -glutamylcystéinyglycocolle dont la synthèse s'effectue en deux étapes :



qui sont catalysées par des enzymes différents. Il existe sous deux formes, la forme réduite (ou forme thiol) et la forme oxydée ou déshydrogénée (forme disulfure).

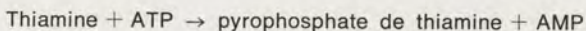
6. Biosynthèse de certains coenzymes

Acide folique. Encore appelé acide ptéroylglutamique, cet acide est synthétisé par de nombreuses formes animales ou végétales à partir de guanosine, selon une voie commune, tout au moins au début, à celle de la synthèse des ptéridines. Les acides dihydroptéroïque et dihydrofolique ont pu être obtenus à partir de 2-amino-4-hydroxy-6-hydroxyméthylidihydroptérine, d'acide p-aminobenzoïque, d'acide glutamique et d'enzymes partiellement purifiés.

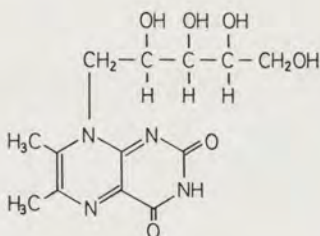
Vitamine B₁₂. C'est la cyanocobalamine qui est synthétisée, tout comme les porphyrines, à partir d'acide δ -aminolévulinique. Les groupes méthyle additionnels proviennent de la méthionine alors que l'aminoisopropanol dérive de la thréonine. L'origine du ribonucléoside de 5,6-diméthylbenzimidazole est inconnue.

Thiamine et pyrophosphate de thiamine. La thiamine est synthétisée à partir de la 2-méthyl-4-amino-5-hydroxyméthylpyrimidine et du 4-méthyl-5-(β -hydroxyéthyl)-thiazole. L'origine de ces deux composés est inconnue.

En présence d'ATP et de l'enzyme approprié, la thiamine est transformée en sa forme active dans les décarboxylations oxydatives

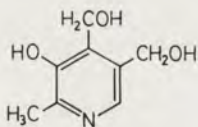


Riboflavine. Elle est synthétisée par les levures, les bactéries, les moisissures, les champignons et les plantes vertes. Les animaux semblent en être incapables. Les détails de la biosynthèse ne sont pas parfaitement connus. On considère en général que les stades initiaux sont très voisins de ceux de la synthèse des purines et qu'un des intermédiaires est la 6,7-diméthyl-8-ribityllumazine.

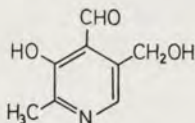


6,7-diméthyl-8-ribityllumazine

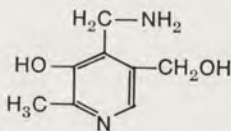
Phosphate de pyridoxal. La pyridoxine, synthétisée par les plantes et des microorganismes, est, dans le foie de mammifère, phosphorylée puis oxydée par une flavoprotéine spécifique en phosphate de pyridoxal. On ne connaît encore rien au sujet de la synthèse de la pyridoxine



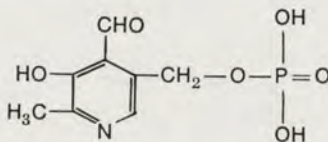
Pyridoxine



Pyridoxal



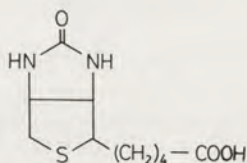
Pyridoxamine



Phosphate de pyridoxal

Biotine. C'est un coenzyme qui intervient dans la fixation du CO_2 dans des molécules organiques. Il a été isolé et sa structure a pu être

établie. Ce coenzyme est fixé par une liaison amide au groupe aminé ϵ de la lysine de l'apoenzyme. Il est synthétisé dans les plantes et les micro-organismes mais les voies métaboliques suivies sont encore inconnues.

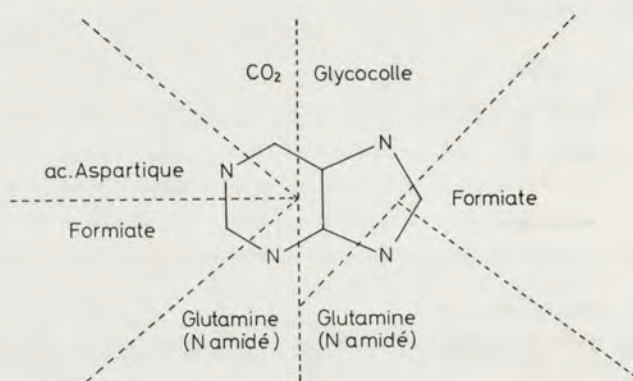


Biotine

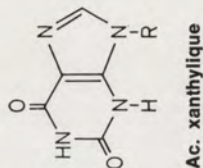
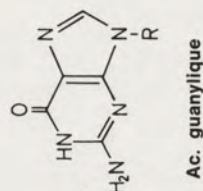
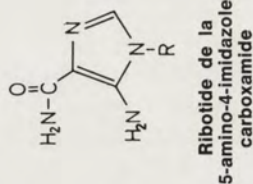
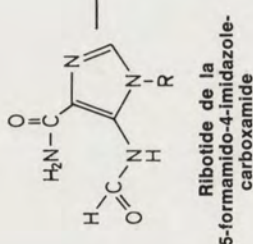
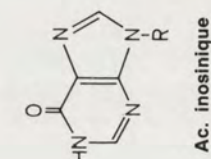
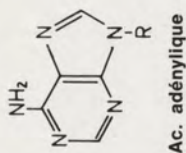
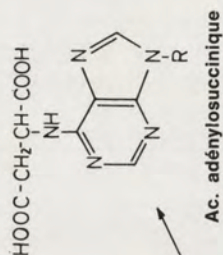
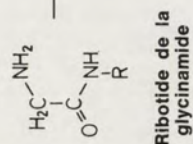
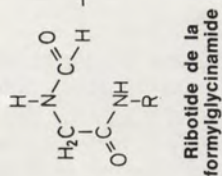
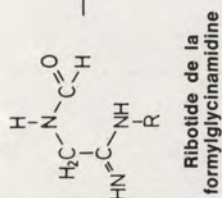
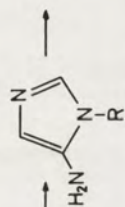
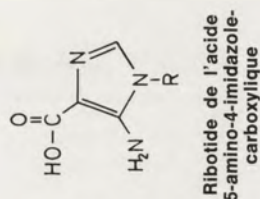
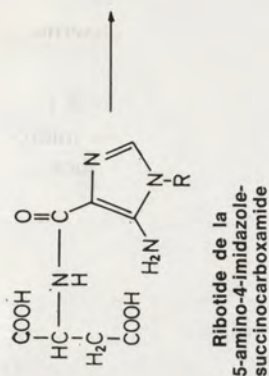
7. Biosynthèse des purines, des pyrimidines, des nucléosides et des nucléotides.

a) Noyau de la purine

Nous possédons une image assez complète des étapes essentielles de la synthèse *de novo* du noyau de la purine. L'emploi des isotopes radioactifs a permis de repérer l'origine des divers carbones et azotes qui forment le squelette des purines. Comme l'indique le schéma



ces atomes proviennent tous de précurseurs très simples, associés à la suite d'une longue séquence de réactions enzymatiques dont voici les étapes principales.



La lettre R représente le fragment 5-phosphoribosyl. Certaines de ces réactions sont réversibles.

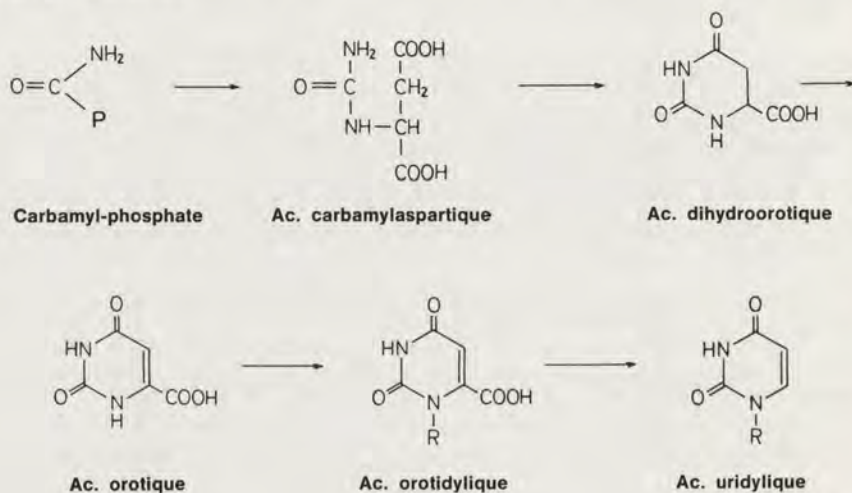
Les intermédiaires peuvent être divisés en trois groupes :

- i) les ribotides acycliques représentant les étapes initiales de la synthèse,
- ii) les ribotides de l'imidazole,
- iii) les ribotides de la purine dont le précurseur commun est l'acide inosinique (ribotide de l'hypoxanthine).

On peut voir que la formation de ribotide (ribotide de glycinamide) apparaît précocement dans la séquence. Elle implique la participation du 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (formé à partir de ribose-5-P et ATP) qui réagit avec la glutamine pour donner un sucre aminé, la 5-phosphoribosyl-1-amine. Le glycolle se fixe alors sur cette molécule pour donner le ribonucléotide (ou ribotide) de glycinamide.

b) Noyau de la pyrimidine

La voie principale aboutissant à la formation du noyau de la pyrimidine débute par la synthèse de carbamyl-phosphate et comprend les intermédiaires suivants :

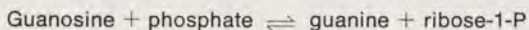
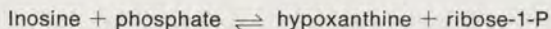
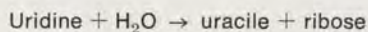


La condensation du carbamyl-phosphate et de l'acide aspartique aboutit à la formation de carbamylaspartate dont la cyclisation fournit l'acide dihydroorotique qui est alors oxydé en acide orotique. C'est à partir de ce noyau pyrimidique que les bases intervenant dans la formation des acides nucléiques sont synthétisées. Il faut toutefois remarquer que les transformations ne s'opèrent pas à partir de la pyrimidine libre mais bien à partir du nucléotide correspondant. C'est ainsi que l'acide orotique est transformé en acide orotidylique (orotidine-5-P) par fixation de ribose-5-phosphate. Par décarboxylation, on obtient l'acide uridylique (uridine-5-phosphate, uridine monophosphate UMP). Cette dernière molécule peut être phosphorylée en UDP ou UTP.

Contrairement à ce qui est observé dans le cas de la synthèse des purines, la formation du nucléotide (ribotidation) apparaît alors que le noyau de la pyrimidine est déjà constitué.

c) *Biosynthèse des nucléosides à partir des bases puriques ou pyrimidiques*

Les nucléotides peuvent être hydrolysés en nucléosides et ortho-phosphate au cours de réactions catalysées par des nucléotidases. Des enzymes extraits de divers organes (rate, foie, rein, moelle osseuse, etc.) sont d'autre part capables de rompre la liaison N-glucosidique des nucléosides. Les informations dont on dispose actuellement semblent indiquer qu'il y a des nucléosidases spécifiques des purines et des pyrimidines. Ces enzymes sont classés en deux catégories selon leur action hydrolytique ou phosphorolytique.



Si le ribose-phosphate et la base purique sont en concentrations équimoléculaires, la formation du nucléoside se réalise à concurrence de 85 à 90 %, à l'équilibre, ce qui suggère que ces enzymes (phosphorylases de nucléosides) pourraient jouer un rôle dans la synthèse des nucléosides.

d) *Interconversion des nucléosides par transfert*

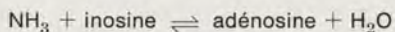
Les enzymes mis en jeu sont des nucléoside ribosyl-transférases (E.N. 2.4.2.5) ou des nucléoside désoxyribosyl-transférases (E.N. 2.4.2.6). Ils catalysent les réactions générales suivantes :



où R et R' représentent des bases puriques et pyrimidiques.

e) *Interconversion des nucléosides et des nucléotides par des réactions autres que des transferts*

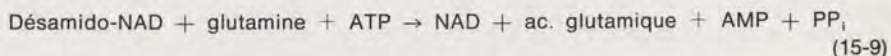
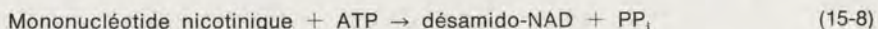
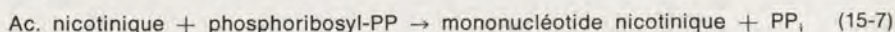
Les faits expérimentaux doivent faire admettre que dans la biosynthèse il ne s'opère pas, à partir des éléments de départ, de synthèse d'une série de nucléosides et de nucléotides. Au contraire, il semble que la synthèse soit limitée à un représentant d'un dérivé de purine et d'un dérivé de pyrimidine, et que par oxydation et par amination, les autres soient formés à partir de ces corps de base. On a, par exemple, isolé l'enzyme qui catalyse l'amination de l'inosine :



Il s'agit de la désaminase de l'adénosine (E.N. 3.5.4.4).

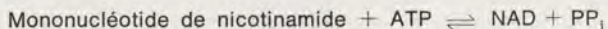
8. Biosynthèse des coenzymes dérivés des nucléosides pyridiniques

Nous avons à propos de la dégradation du tryptophane, mentionné la voie conduisant à l'acide nicotinique. La conversion directe de l'acide nicotinique en nicotinamide n'a jamais été mise en évidence. On connaît mieux le passage de la nicotinamide aux nucléotides de nicotinamide qui s'opère selon le schéma suivant :

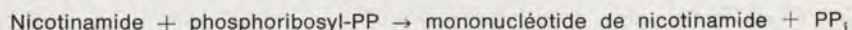


La réaction (15-9) catalysée par la synthétase du NAD (E.N. 6.3.5.1) est inhibée par l'azasérine.

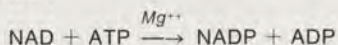
Une autre réaction, catalysée comme la réaction (15-8), par la pyrophosphorylase du NAD (E.N. 2.7.7.1) utilise le mononucléotide de nicotinamide selon le schéma :



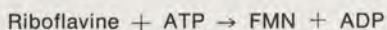
Le mononucléotide de nicotinamide étant lui-même formé par la réaction suivante :



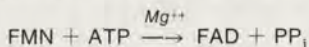
La synthèse de NADP s'accomplit à partir de NAD. C'est une réaction typique de phosphokinase :



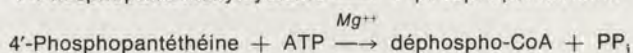
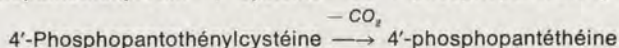
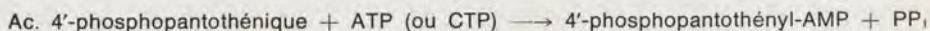
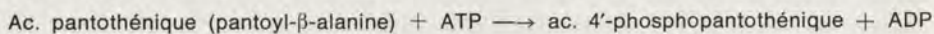
La synthèse des nucléotides de la flavine est catalysée par la kinase de la riboflavine (E.N. 2.7.1.26) :



Le dinucléotide (FAD) est formé à partir du mononucléotide et d'ATP :

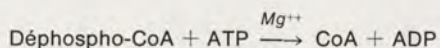


Quant au coenzyme A, sa synthèse se fait selon les étapes suivantes :



Le phosphate 3'- de l'adénosine est absent dans le déphospho-CoA, d'où

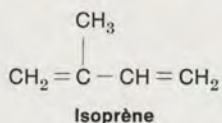
son nom. En présence d'une kinase du déphospho-CoA (E.N. 2.7.1.24), on obtient



C) VOIES DU MÉTABOLISME SECONDAIRE

1. Chimie des isoprénoïdes (terpènes)

Les terpènes et leurs dérivés constituent un groupe de substances naturelles qu'on peut rattacher à l'isoprène C_5H_8

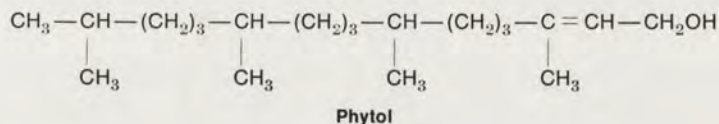


L'isoprène n'existe pas dans la nature à l'état libre, mais on le trouve dans la biosphère sous la forme de nombreux polyisoprènes.

On peut répartir ces derniers en trois groupes : terpènes inférieurs, caroténoïdes et polyterpènes.

a) Terpènes inférieurs

Ils résultent de la condensation de deux (monoterpènes), de trois (sesquiterpènes), de quatre (diterpènes), de six (triterpènes) ou de huit (tétraterpènes) résidus d'isoprène. Les terpènes inférieurs sont très répandus dans les huiles essentielles de nombreux végétaux. Le phytol, alcool non saturé présent dans la molécule de chlorophylle est un dérivé de diterpène.

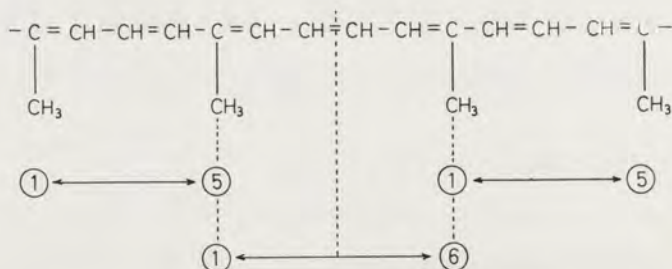


b) Caroténoïdes

i) Définition

L'une des catégories de dérivés de l'isoprène est celle des caroténoïdes, pigments dont la couleur va du jaune au rouge et qui sont de nature aliphatique ou alicyclique. Ce sont, selon la définition de Karrer, des dérivés de plusieurs unités d'isoprène (souvent huit) réunies de telle sorte que les deux groupements méthyle les plus proches du centre de

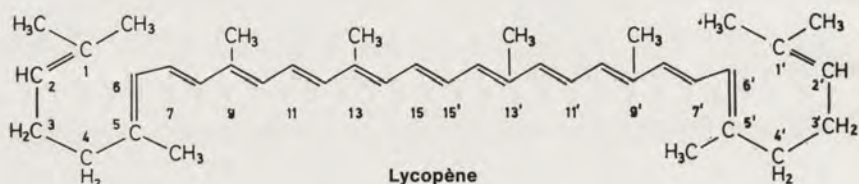
la molécule sont en position 1-6, tandis que les autres groupes méthyle latéraux sont en position 1-5.



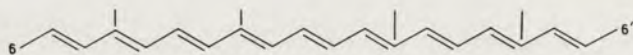
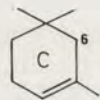
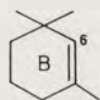
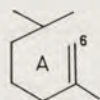
La série de doubles liaisons conjuguées constitue le système chromophore des pigments caroténoïdes.

ii) Classification

On distingue deux classes de caroténoïdes naturels : les caroténoïdes proprement dits, en C_{40} (8 résidus d'isoprène) et les caroténoïdes en moins de C_{40} . On peut considérer les caroténoïdes naturels comme se rattachant au lycopène ($C_{40}H_{56}$), pigment rouge de la tomate.



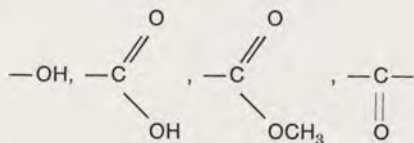
Il peut s'opérer une cyclisation qui aboutit à la formation de caroténoïdes mono- ou bicycliques. Les carotènes représentent différentes combinaisons des groupes terminaux A, B et C réunis par une chaîne de dix doubles liaisons conjuguées :



Lycopène : A + A
 γ -carotène : A + B
 δ -carotène : A + C

β -carotène : B + B
 α -carotène : B + C
 ϵ -carotène : C + C

L'introduction de diverses fonctions oxygénées

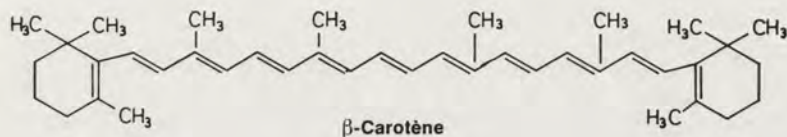
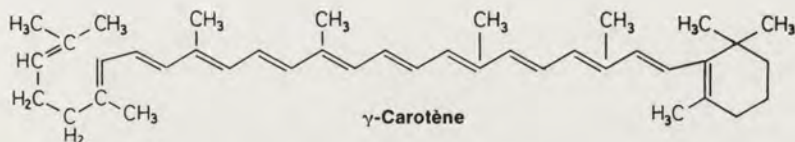
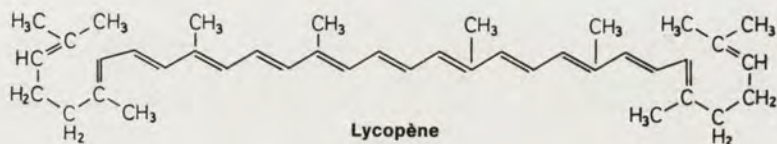


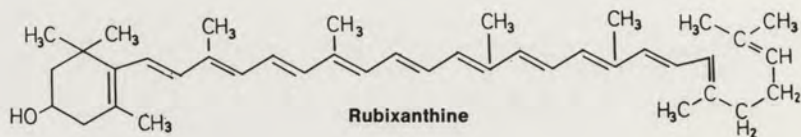
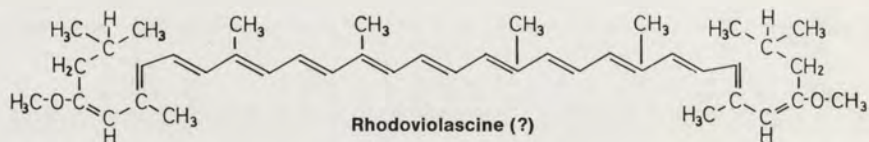
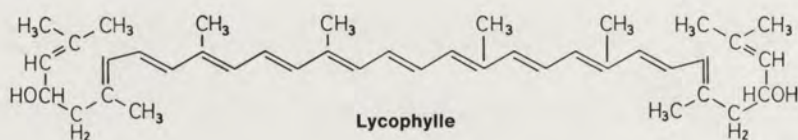
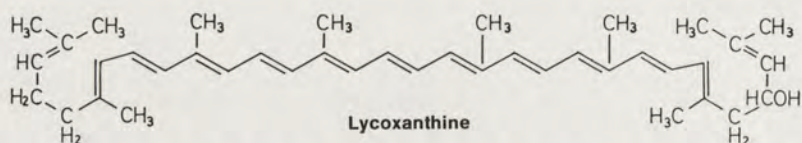
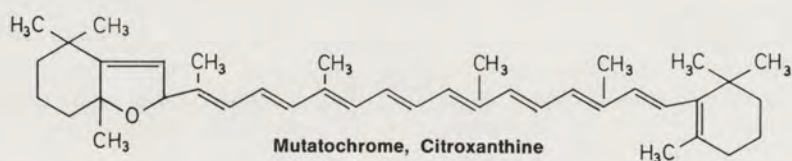
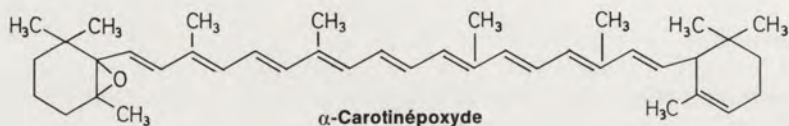
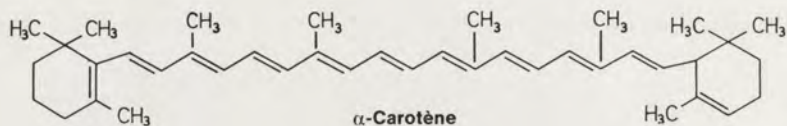
donne naissance à toute une série de dérivés. Les carotènes (carotte, citron, orange, abricot, etc.), et le lycopène (tomate) sont, par exemple, des hydrocarbures, tandis que la cryptoxanthine (fruit du coqueret, jaune d'œuf, etc.), la rubixanthine (fruit de l'églantier, etc.), la xanthophylle (feuilles vertes et feuilles jaunies, fleur de pissenlit, jaune d'œuf, etc.), la lutéine (citrouille, nombreuses fleurs jaunes, etc.), la zéaxanthine (graines de maïs, jaune d'œuf, etc.), la flavoxanthine (fleur du bouton d'or, etc.), la violaxanthine (fleurs du cytise, etc.), la taraxanthine (fleur du pissenlit, etc.) et la fucoxanthine (algues du genre *Fucus*, etc.), sont des alcools. D'autre part, la rhodoxanthine (baie de l'if, etc.) est une dicétone, alors que la capsanthine (piment) et la capsorubine (piment) sont des oxycétones et que la crocétine (safran ou pigment du pollen de *Crocus*, etc.) est un acide. Enfin, par dégradation oxydative, la chaîne peut être raccourcie. Les pigments caroténoïdes sont répandus dans la biosphère aussi bien chez les végétaux que chez les animaux, les algues et les bactéries.

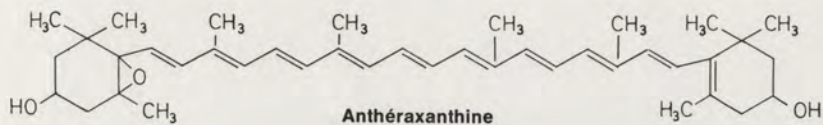
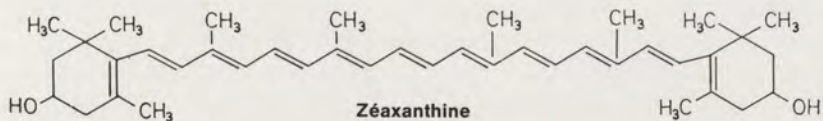
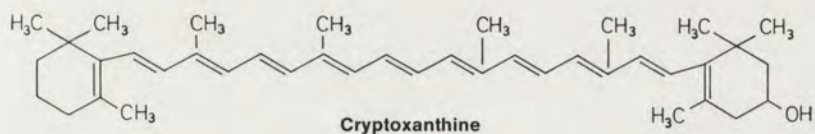
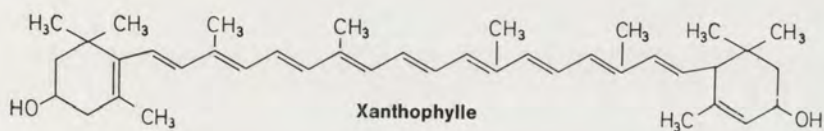
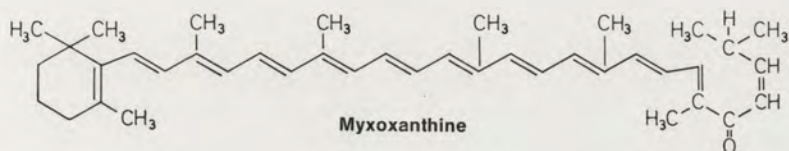
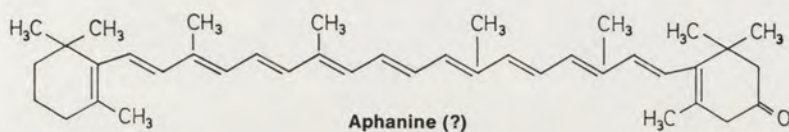
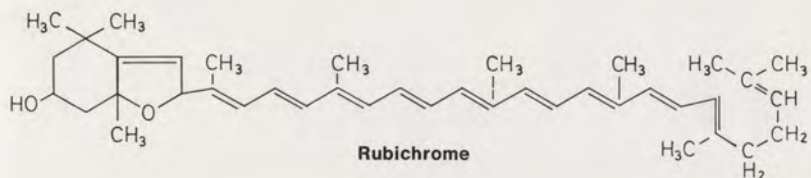
Tableau 15-1

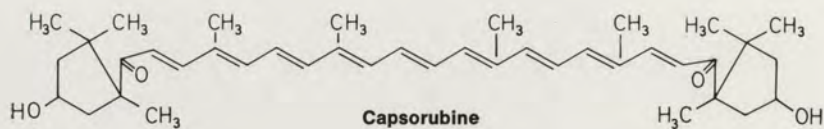
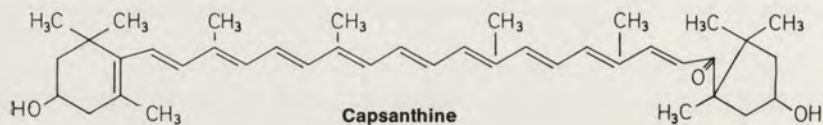
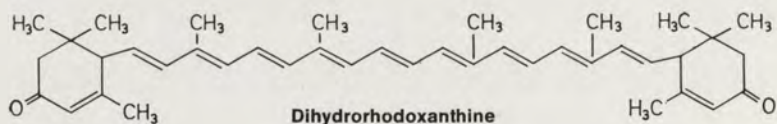
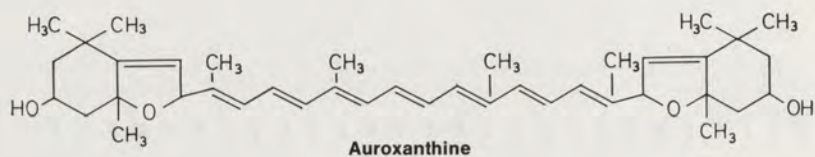
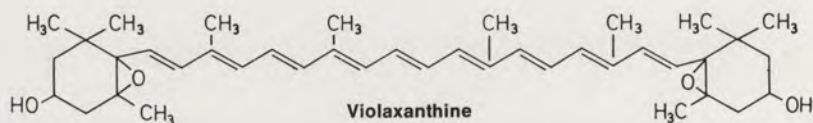
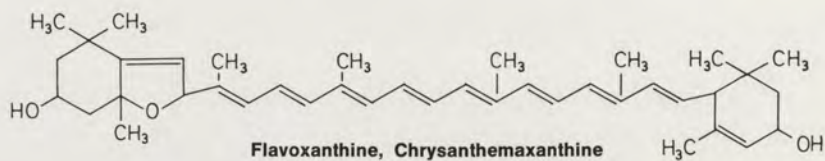
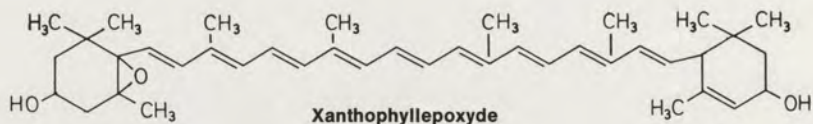
CAROTÉNOIDES NATURELS DONT LA STRUCTURE EST CONNUE

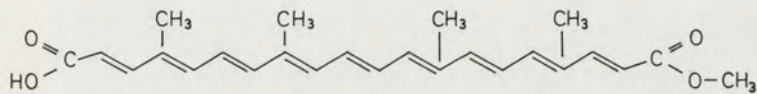
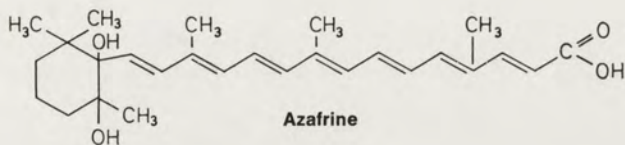
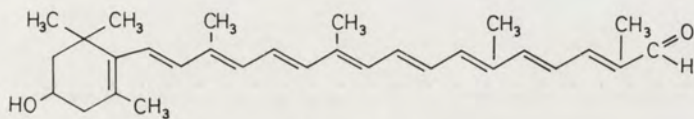
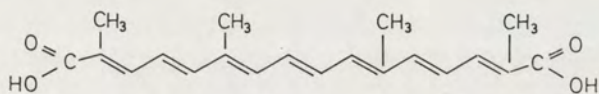
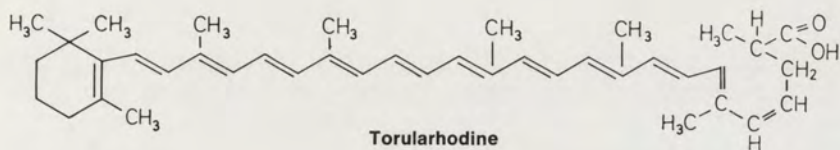
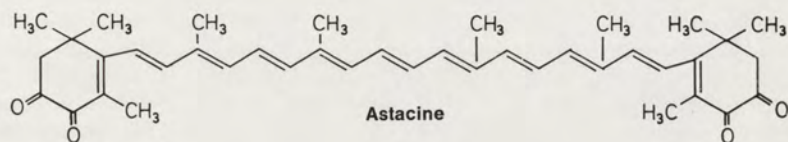
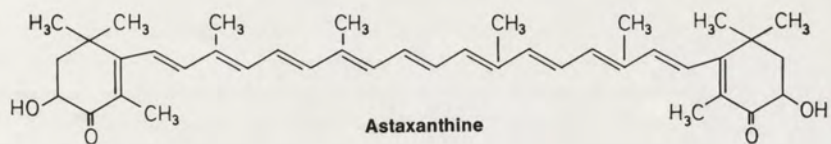
(d'après Karrer et Jucker)







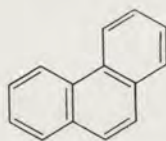




2. Chimie des isoprénoïdes (dérivés naturels du phénanthrène)

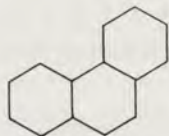
Il existe dans la biosphère de nombreuses substances qui, du point de vue de la chimie organique, sont apparentées au phénanthrène. Ce dernier, $C_{14}H_{10}$, est retiré de la fraction du goudron de houille à partir de laquelle on obtient aussi l'anthracène, dont il est un isomère.

Parmi les dérivés du phénanthrène présents dans la biosphère, on trouve de nombreux pigments quinoniques et de nombreux alcaloïdes, comme par exemple ceux du groupe de la morphine. Mais les dérivés du phénanthrène les plus caractéristiques des êtres vivants sont ceux qui, du point de vue de la chimie organique, se rattachent à une combinaison du noyau phénanthrène et d'un autre noyau, le cyclopentane.



Phénanthrène

Quand un atome d'hydrogène est fixé à chaque carbone du phénanthrène, les doubles liaisons disparaissent et on obtient le perhydrophénanthrène.

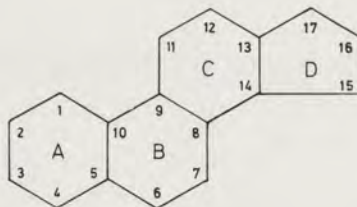


Perhydrophénanthrène



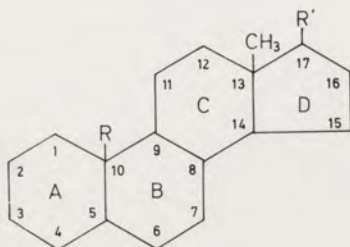
Cyclopentane

On retrouve la structure du cyclopentane et celle du perhydrophénanthrène dans le cyclopentanoperhydrophénanthrène, ou vulgairement stérane :



Les dérivés naturels de ce noyau, ou stéroïdes, sont des dérivés

oxygénés, alkyles-substitués de l'hydrocarbure, et ils ont la formule générale suivante, dans laquelle R et R' varient d'un dérivé à un autre :



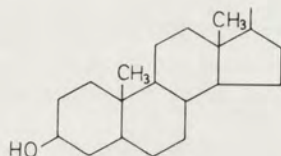
Dans la biosphère, cette formule est présente sous les formes d'une série de variantes dont les plus importantes sont les suivantes :

	R	R'
		CH ₃
Cholestérol (1)	CH ₃	CH—(CH ₂) ₃ —CH(CH ₃) ₂
Acides biliaires	CH ₃	CH ₃
		—CH—(CH ₂) ₂ —COOH
Substances androgènes	CH ₃	OH ou O
Substances lutéales	CH ₃	acétyle
Substances œstrogènes	—	OH ou O
(A = noyau benzène)		

a) Stéroïds

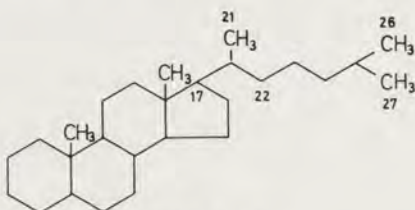
Dans la biosphère, les stéroïds ont généralement un seul oxhydryle alcoolique, et ils portent une chaîne latérale.

Leur formule générale



(1) Les autres stéroïds possèdent des doubles liaisons dans la chaîne latérale ou des substitutions par des groupes alkyle.

les fait considérer, du point de vue de la chimie organique, comme des dérivés du cholestane $C_{27}H_{48}$ ou du coprostane (allocholestane)

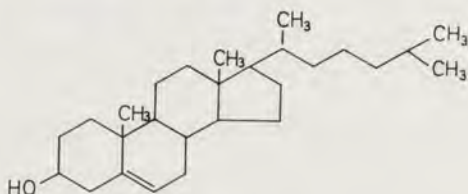


Cholestane

La molécule du cholestane contient huit carbones asymétriques (5, 8, 9, 10, 13, 14, 17, 20) : il a théoriquement 256 stéréoisomères. Quand un oxhydryle est fixé en C-3, le nombre de ces stéréoisomères s'élève à 512. La plupart des isomères naturels diffèrent uniquement par des particularités situées au niveau de C-3 ou de C-5. D'une manière générale, le méthyle porté par C-10 est situé au-dessus du plan du papier. Si l'oxhydryle porté, comme c'est généralement le cas, par C-3 est lui aussi au-dessus du plan du papier, l'isomère sera appelé *cis* ou β . Dans le cas inverse, on l'appellera *trans* ou α .

Lorsqu'une liaison simple du cholestane est remplacée par une liaison double, il devient un cholestène et la position de la liaison double est indiquée par le premier (dans l'ordre des nombres croissants) des carbones liés par cette liaison double.

Un des stérols les plus répandus dans la biosphère est par exemple le cholestérol ou 3 (*cis*)-hydroxy-5-cholestène.



Cholestérol

Les nombreux stérols de la biosphère diffèrent par le nombre et la place des doubles liaisons, et par le nombre d'atomes de carbone de la chaîne latérale. Il existe des stérols saturés, tandis que d'autres ont une, deux ou trois doubles liaisons. Chez les animaux supérieurs, le cholestérol est le stérol typique, mais ce n'est pas le cas chez les animaux inférieurs. Chez ces derniers, le cholestérol n'est qu'un stérol parmi les autres.

L'ergostérol est le principal stérol des champignons, et le fucostérol celui des algues phéophycées. Les végétaux supérieurs contiennent des mélanges complexes de stérols. Les bactéries en général ne contiennent pas de stérols, ni d'ailleurs d'autres stéroïdes.

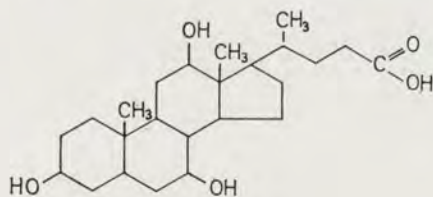
On peut classer les stérols selon leur pouvoir rotatoire, intimement lié à leur structure :

- I. $[\alpha]_D$ plus grand que -90° - système de doubles liaisons conjuguées dans l'anneau B.
- II. $[\alpha]_D$ de -30° à -70° - double liaison 5-6.
- III. $[\alpha]_D$ de -20° à $+10^\circ$ - double liaison 7-8.
- IV. $[\alpha]_D$ de $+10^\circ$ à $+30^\circ$ - saturés dans le cycle et dans la chaîne latérale (exception : néospongostérol).
- V. $[\alpha]_D$ de $+40^\circ$ à $+50^\circ$ - double liaison 8-9.

Les stérols du groupe I diffèrent de tous les autres. La double liaison conjuguée dans le cycle B leur confère la propriété de subir des réarrangements moléculaires sous l'action des rayons ultraviolets. L'ergostérol, stérol principal des champignons supérieurs ou inférieurs, appartient à ce groupe, dont les membres diffèrent par la chaîne latérale (présence ou absence de doubles liaisons, fixation de méthyles ou d'éthyles, etc.). C'est également par les caractères de la chaîne latérale que diffèrent les stérols du groupe II (cholestérol, campestérol, clionastérol, etc.).

b) Acides biliaires

Les corps qu'on appelle ainsi parce qu'on les a isolés de la bile des vertébrés, sont voisins des stérols du groupe IV et ils portent sur le noyau deux méthyles et un oxhydryle au moins. Leur chaîne latérale, en C-5 se termine par un carboxyle. Un exemple est l'acide cholique.



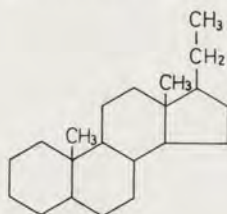
Acide cholique

c) Autres stéroïdes naturels

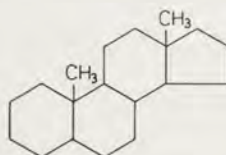
Il existe dans la biosphère des stéroïdes ayant en position 17 une chaîne de deux atomes de carbone seulement. Ce sont les stéroïdes à 21 atomes de carbone. Ils sont des dérivés du pregnane. A cette catégorie appartiennent la progestérone et les hormones corticosurréaliennes des mammifères.

D'autres stéroïdes n'ont pas de chaîne latérale attachée au carbone 17. Comme ils sont porteurs des deux habituels méthyles, ils sont des stéroïdes en C_{19} , dérivés de l'aetiocholane. Parmi eux, on trouve la testostérone et

les stéroïdes portant une fonction cétone en position 17, appelés pour cette raison 17-cétostéroïdes qui sont présents dans l'urine des mammifères.

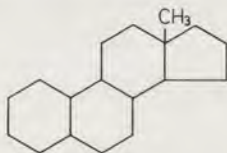


Pregnane

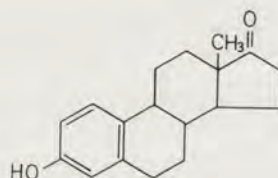


Aetiocolane

D'autres stéroïdes ne sont porteurs que d'un groupe méthyle et sont des stéroïdes en C_{18} . Ce sont des dérivés d'œstrane. Les plus intéressants sont les hormones œstrogènes dont le cycle A est un noyau benzène (ex. l'œstrone).



Oestrane

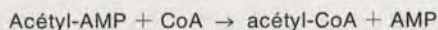
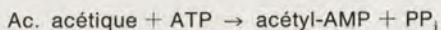


Oestrone

3. Biosynthèses des isoprénoïdes

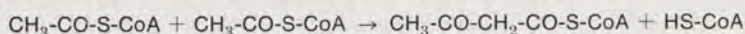
a) Passage de l'acétate libre à l'acétate actif

Nous avons vu comment se déroulait, au cours des réactions d'amorçage, la production d'acétate actif ou acétyl-CoA à partir des diverses catégories d'aliments. L'acétyl-CoA peut aussi provenir de l'activation de l'acétate libre et cette opération présente de curieuses particularités. Dans la levure et dans les tissus animaux, c'est l'ATP qui active l'acétate et cela par un type particulier de scission de la molécule, fournissant de l'AMP et du pyrophosphate :



b) Condensation de C_2 en acétoacétyl-CoA

C'est une condensation de Claisen modifiée, s'exerçant entre deux molécules d'acétyl-CoA et dont le résultat est l'apparition d'acétoacétyl-CoA avec séparation d'une molécule de CoA. Cette réaction est réversible et l'enzyme qui catalyse la condensation catalyse aussi la thiolyle inverse. Si une déacylase spécifique est présente, l'acétoacétate est libéré à partir de l'acétyl-CoA et l'équilibre est ainsi constamment modifié jusqu'à ce que l'acétyl-CoA soit totalement transformé en acétoacétyl-CoA :



c) Synthèse de l'acide mévalonique

La synthèse des isoprénoïdes comporte trois phases : la synthèse du mévalonate, la formation des polyisoprènes et la cyclisation. Les voies

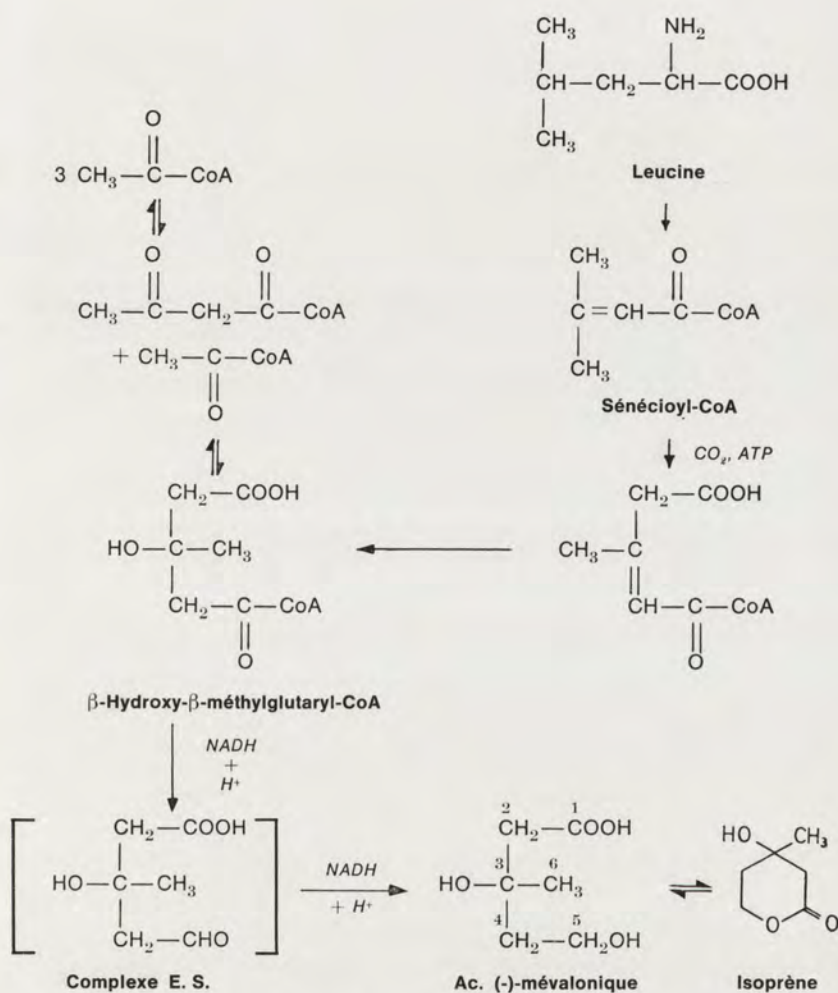


FIG. 15-3. Biosynthèse du mévalonate (d'après Bu'Lock).

allant de l'acétyl-CoA et de la leucine à l'acide mévalonique sont montrées dans la figure 15-3.

Deux phosphorylations successives fournissent le pyrophosphate de l'acide mévalonique et une troisième phosphorylation est suivie de la for-

mation de Δ^3 -isopentényl-pyrophosphate qui à la suite d'un réarrangement moléculaire, donne le 3,3-diméthylallyl-pyrophosphate (Fig. 15-4).

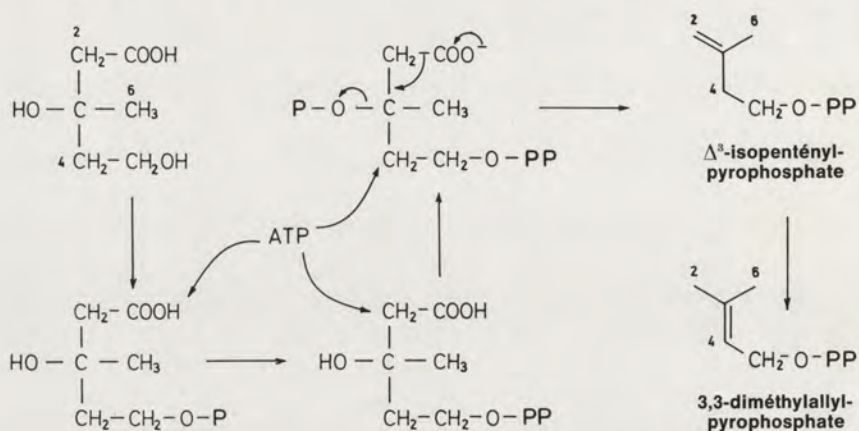


FIG. 15-4. Conversion du mévalonate en unités à 5 carbones phosphorylées.

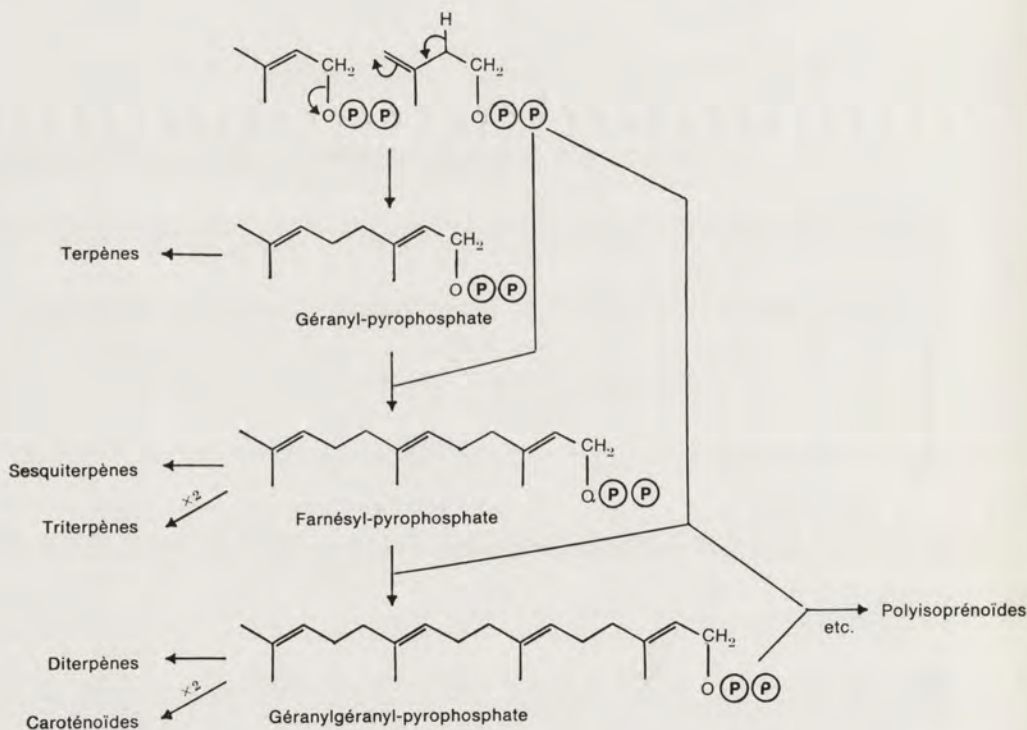


FIG. 15-5. Formation d'un terpène en C₁₀ par alkylation d'un pyrophosphate d'allyle.

d) Synthèse des polyisoprènes

Le 3,3-diméthylallyl-pyrophosphate est un agent alkylant intervenant dans la biosynthèse de polyisoprénoïdes du type de liaison « tête à queue ».

Comme le montre la figure 15-5, c'est par l'alkylation de l'isopentényl-pyrophosphate, précurseur des terpènes, que se forment les terpènes en C_{10} . La double liaison de la seconde unité C_5 migre comme l'indique la figure 15-5 pour fournir le géranyl-pyrophosphate. Ce dernier est à son tour alkylé avec formation de farnésyl-pyrophosphate (C_{15}), puis de géranylgeranyl-pyrophosphate (C_{20}). C'est par ce processus, répété de nombreuses fois, que se forme le caoutchouc. Les chaînes latérales isoprénoïdes des ubiquinones et de la vitamine K résultent aussi d'alkylation de la même nature. Quand le processus d'alkylation à partir de l'isopentenyl-pyrophosphate s'arrête au stade C_{10} , C_{15} ou C_{20} , on obtient les précurseurs respectivement des monoterpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes.

Les triterpènes (C_{30}) résultent du couplage de sesquiterpènes (C_{15}). L'une des molécules importantes voisines des triterpènes, le squalène, est produite par la chaîne de réactions que résume la figure 15-6.

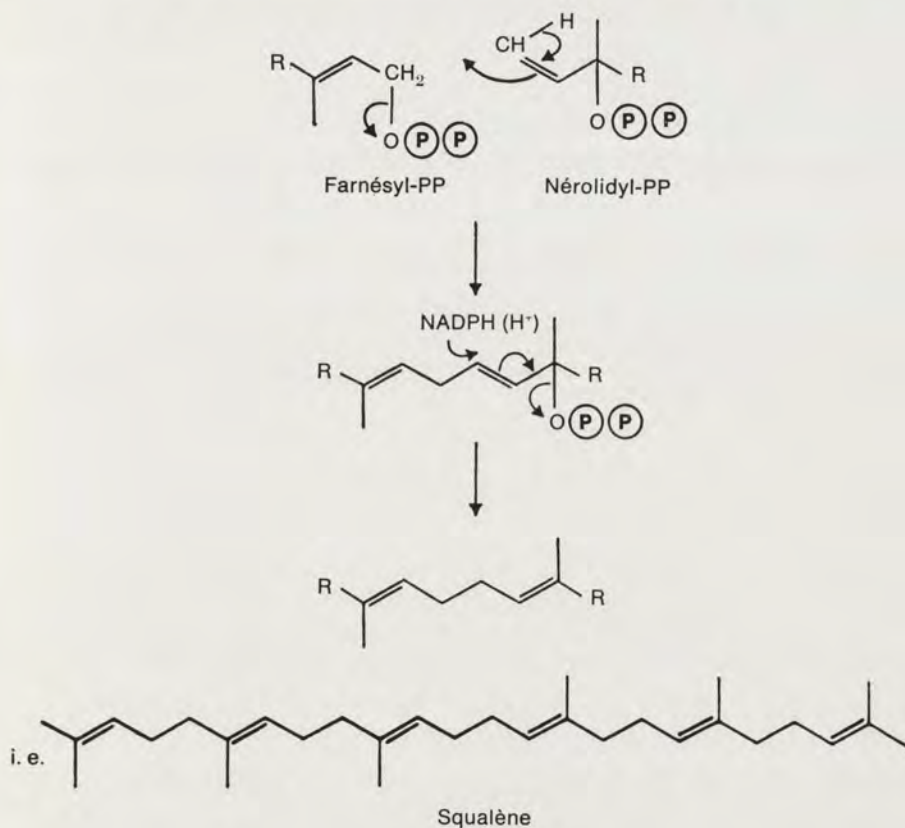


FIG. 15-6. Couplage d'unités C_{15} dans la synthèse du squalène (d'après Bu'Lock).

Un réarrangement moléculaire du farnésyl-pyrophosphate produit le nérolidyl-pyrophosphate qui possède une double liaison terminale, laquelle peut être alkylée par une nouvelle molécule de farnésyl-pyrophosphate. La déphosphorylation finale implique la présence de NADPH.

Les caroténoïdes (C_{40}) résultent du couplage de diterpènes (C_{20}).

e) *Cyclisation des chaînes de polyisoprènes*

Un exemple est fourni par la conversion du squalène (voisin des triterpènes) en un triterpène cyclisé, le lanostérol. Cette suite de réactions, représentée dans la figure 15-7, part d'une structure de squalène en chaise-bateau-chaise.

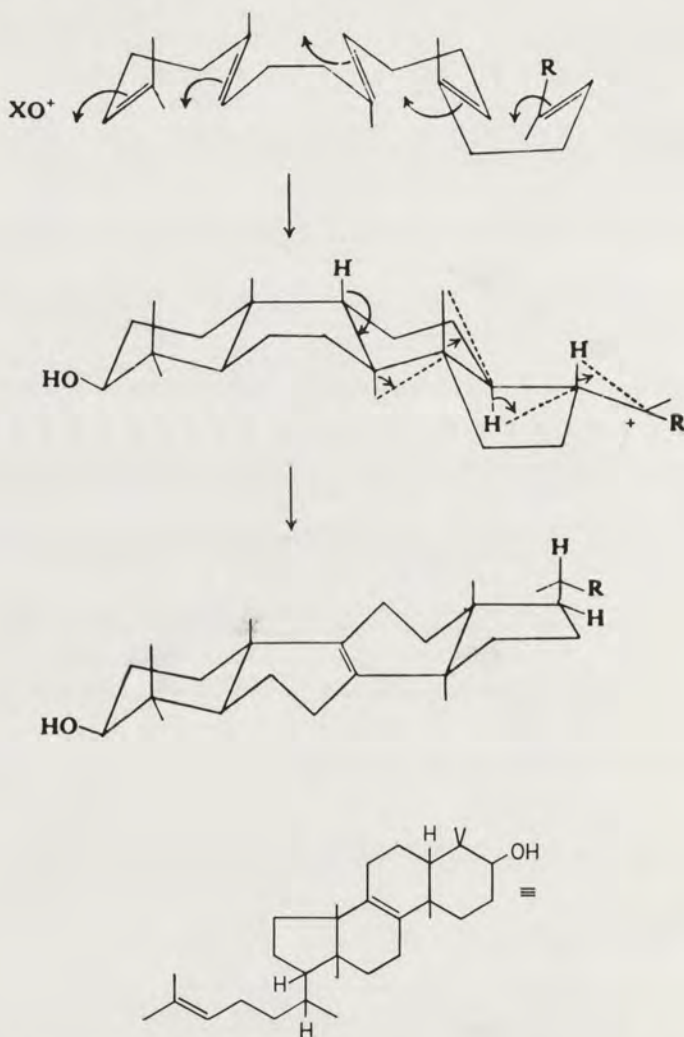


FIG. 15-7. Cyclisation et réarrangement du squalène aboutissant à la formation de lanostérol (d'après Bu'Lock).

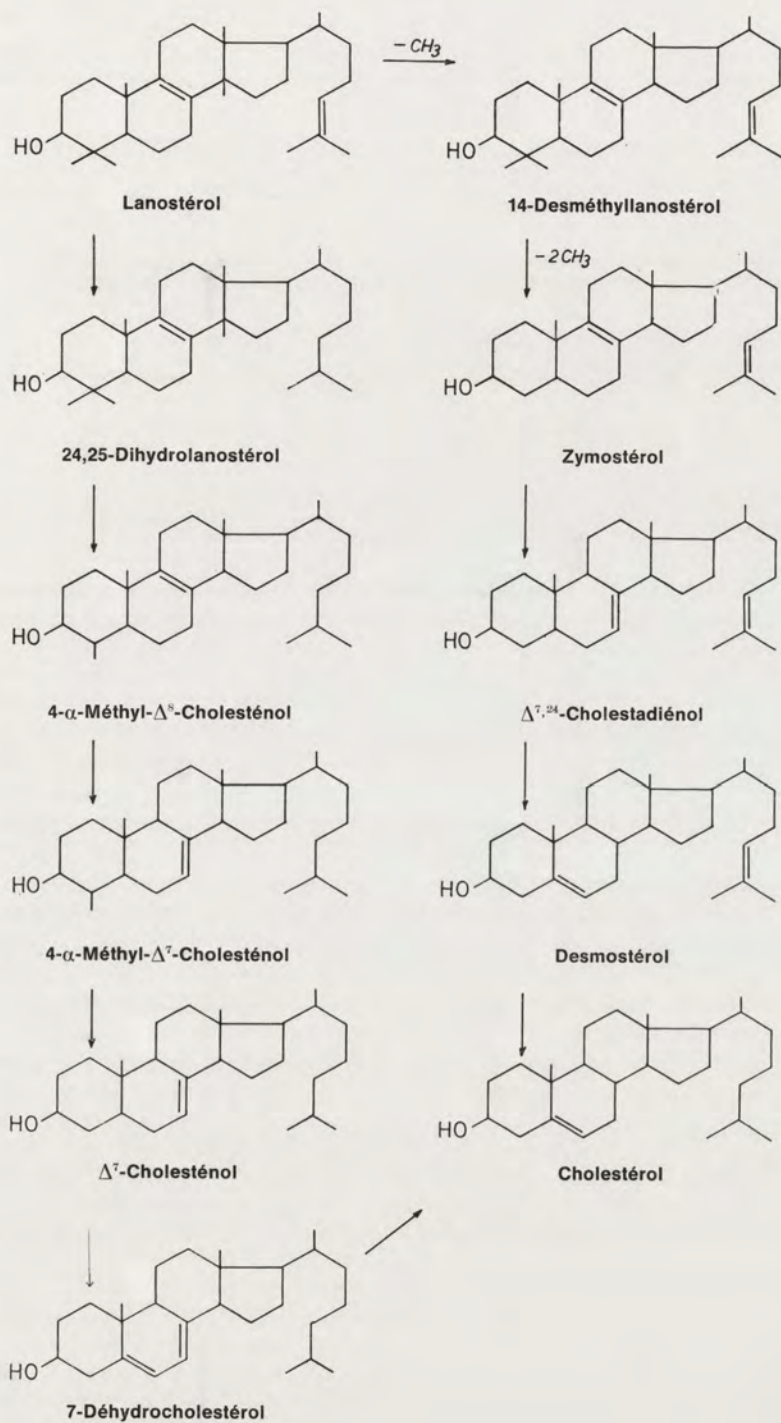
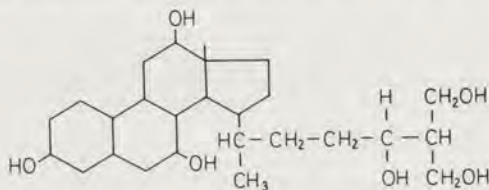


FIG. 15-8. Voies de la biosynthèse du cholestérol (d'après Richards et Hendrickson, 1964).

Le lanostérol est le précurseur du cholestérol. Trois groupes méthyle sont enlevés par voie oxydative avec formation de CO_2 , la double liaison de la chaîne latérale est réduite, et celle du noyau polycyclique est déplacée.

Le cholestérol, lui-même résultant de la mise en jeu d'un système formé par une longue série d'enzymes est probablement converti en alcools primaires (A/B cis) contenant des groupes hydroxyle supplémentaires (dans les positions qu'ils occupent dans les « acides biliaires »), alcools de l'espèce de ceux qu'on trouve, conjugués avec du sulfate, dans la bile des sélaciens, des téléostéens et des amphibiens. L'un des alcools de ce type est le scymnol qui a été extrait de la bile du requin.



Scymnol

La fonction alcool primaire terminale du C-27 est ensuite oxydée pour donner des acides coprostaniques hydroxylés tels que ceux qui se trouvent chez les amphibiens et les reptiles inférieurs. Enfin, une β -oxydation de la chaîne latérale donne les acides biliaires en C_{24} qui caractérisent les reptiles supérieurs, les oiseaux et les mammifères. Chez ces derniers, ils sont conjugués avec le glycocon.

La voie mévalonique et stéroïde fournit donc l'acide mévalonique qui est à l'origine de la biosynthèse des divers terpènes entrant dans la composition des huiles essentielles des végétaux, lesquelles jouent un rôle écologique important dans le continuum biochimique et notamment dans les relations entre végétaux et insectes.

Un autre développement de la même lignée est la biosynthèse des tétraterpènes parmi lesquels on trouve les caroténoïdes.

Les bactéries, certains champignons et les végétaux sont capables de synthétiser les molécules de caroténoïdes, tandis que les animaux peuvent seulement les modifier, par exemple par oxydation.

La structure caroténoïde apparaît comme liée de manière très générale à la fonction de photoréception. Le type de photorécepteurs non différenciés est le type dermatoptique, qu'on trouve depuis les formes les plus primitives jusqu'au niveau des amphibiens et qui existe aussi chez les végétaux. Le maximum de cette absorption « dermatoptique » est situé dans l'ultra-violet, autour de 365 m μ . Ce mécanisme est à la base des réactions photocinétiques gouvernant les tropismes à l'égard d'une source lumineuse. Dans un certain nombre de cas, des photorécepteurs ont secondairement évolué et à leur niveau ont été biosynthétisés des composés adaptés à la lumière venant du soleil. Ces substances relèvent toutes du groupe des caroténoïdes dont la biosynthèse peut être considérée comme une adaptation à la fonction de photoréception. Chez les plantes, le phototropisme dépend de la présence de caroténoïdes tels que la xanthophylle dans le coléoptyle d'*Avena*, ou le β -carotène dans les sporangiophores des phycomycètes.

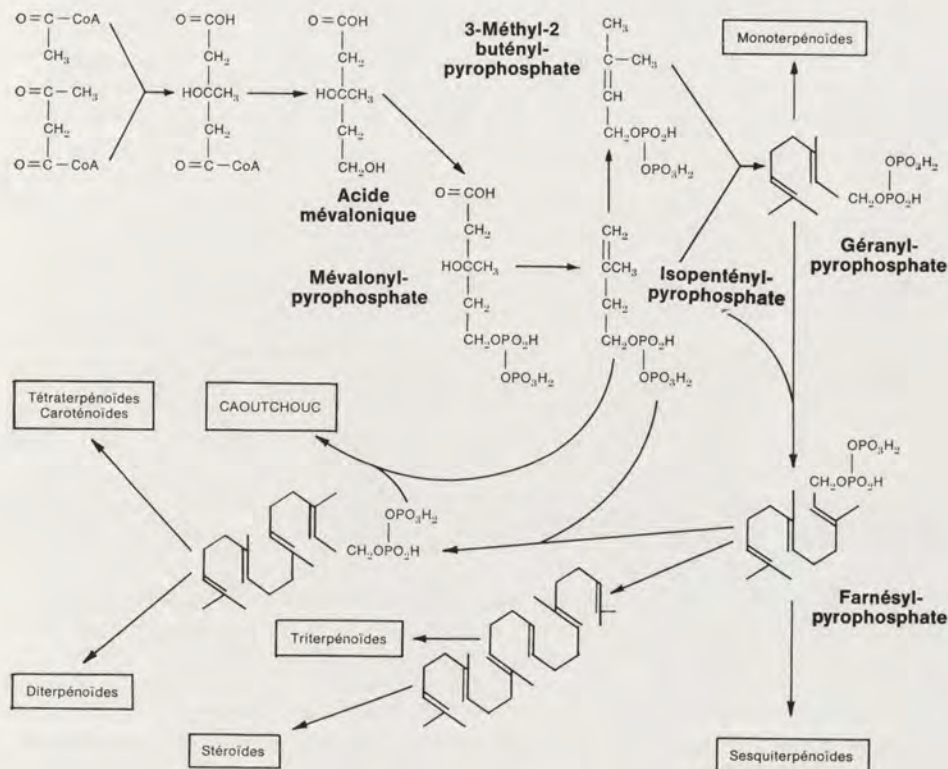


FIG. 15-9. Voie mévalonique et stéroïde (d'après Florkin).

4. Polycétides

La voie métabolique des isoprénoïdes est un prolongement de la voie primaire de formation d'acétoacétyl-CoA.

Ce n'est pas le cas pour la voie primaire conduisant par l'intermédiaire du malonyl-CoA à la biosynthèse des acides gras (voir p. 255). Cette voie métabolique présente beaucoup d'extensions latérales de formes diverses, conduisant dans certains cas à des produits aromatiques, comme par exemple différents antibiotiques synthétisés par des champignons.

Un exemple est donné par le schéma métabolique conduisant du malonyl-CoA aux antibiotiques dérivés de la tétracycline (Fig. 15-10).

5. Métabolites de l'acide shikimique

L'acide shikimique est l'un des intermédiaires de la synthèse de la tyrosine. Sur lui vient se greffer une nouvelle voie biosynthétique conduisant à l'acide coumarique, et de là à une série de molécules aromatiques fréquemment trouvées chez les végétaux (voie coumarique).

Il s'agit d'une séquence impliquant une condensation aldolique du phosphoénolpyruvate (2 de la fig. 15-11) avec un tétrorse (1) pour donner un sucre à 7 carbones (3). Ce dernier est l'objet d'une cyclisation aldolique qui fournit de l'acide déhydroquinique (4), transformé en acide shi-

chimique (5) puis en acide préphénique (6) par addition d'énolpyruvate (5). L'aromatisation de l'acide préphénique donne l'acide phénylpyruvique (7) qui par transamination aboutit à la synthèse de phénylalanine (8). La désamination résulte en la formation d'acide cinnamique (9). Une voie parallèle aboutit à la tyrosine (10) et à l'acide coumarique (11).

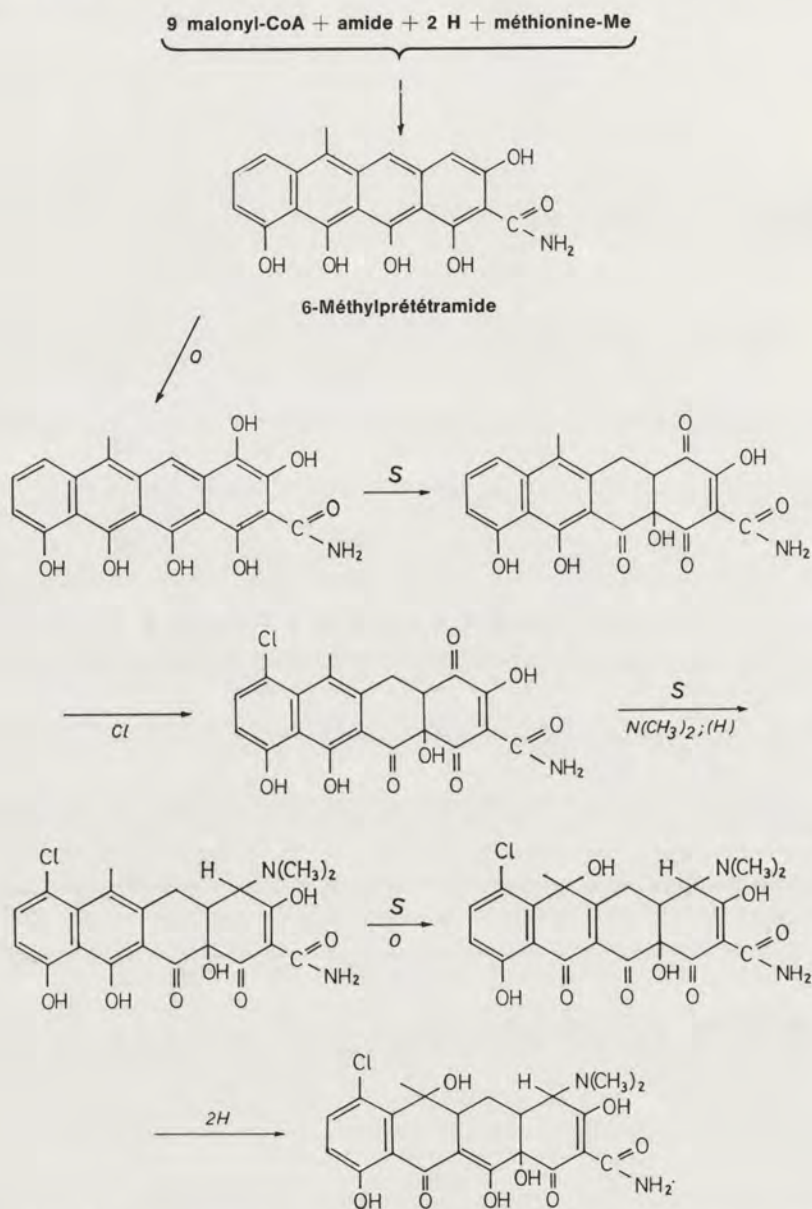


FIG. 15-10. Séquence métabolique conduisant du malonyl-CoA aux antibiotiques dérivés de la tétracycline. Les étapes stéréospécifiques sont marquées de la lettre S (d'après Bu'Lock).

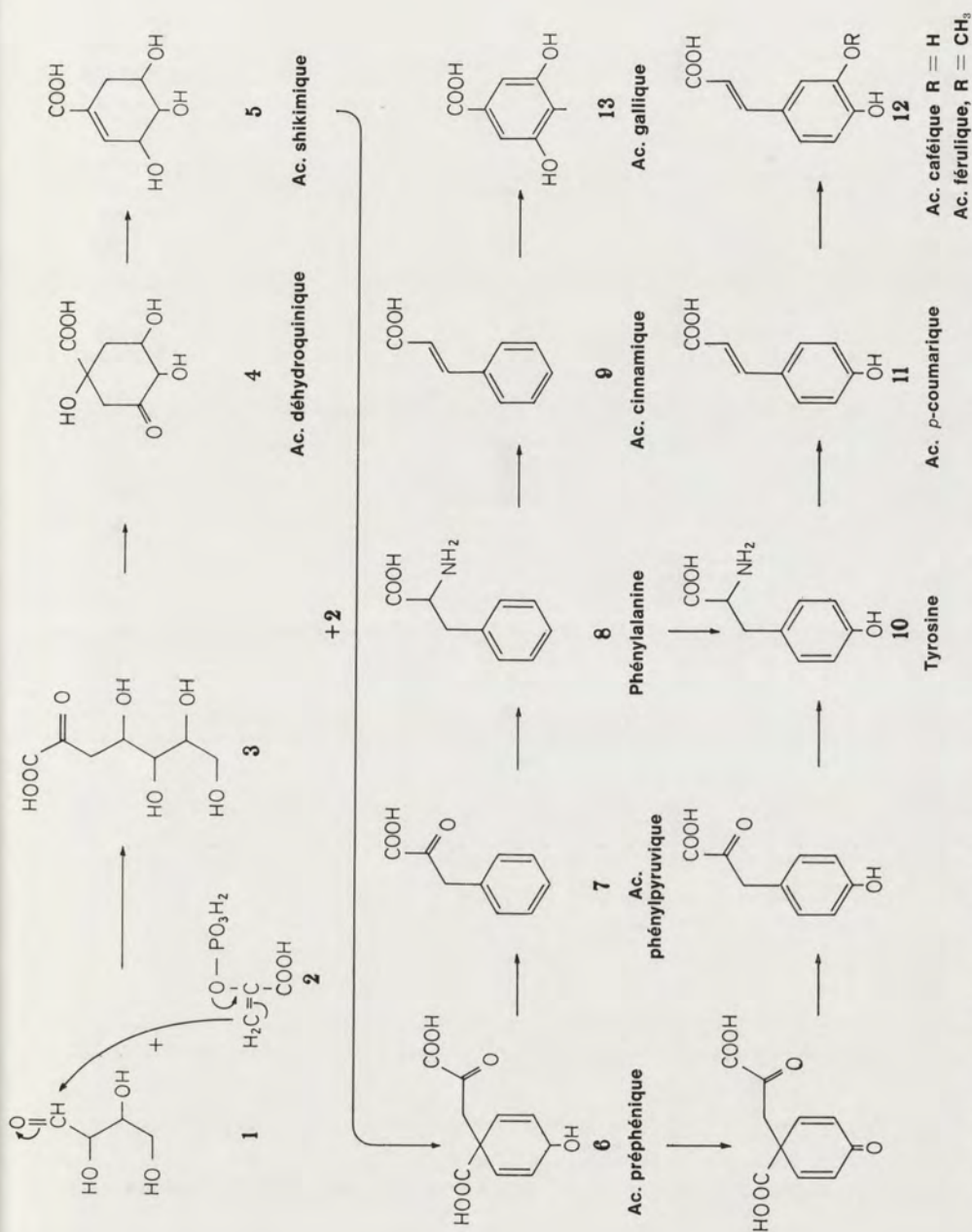


FIG. 15-11. Voie métabolique de l'acide shikimique et biosynthèse de certains dérivés aromatiques (d'après Henrickson).

Les dérivés de l'acide shikimique, produits par une voie secondaire greffée sur la voie primaire de la synthèse des acides aminés aromatiques, sont très répandus chez les plantes supérieures et par contre peu fréquents chez les champignons.

De l'acide coumarique et du malonyl-CoA dérive la voie flavonoïde, produisant la série des composés en $C_6-C_3-C_6$, fréquemment présents dans les végétaux sous la forme de glucosides et parmi lesquels se trouvent notamment une série de pigments jaunes.

Les voies secondaires flavonoïdes sont résumées dans les figures 15-12 et 15-13.

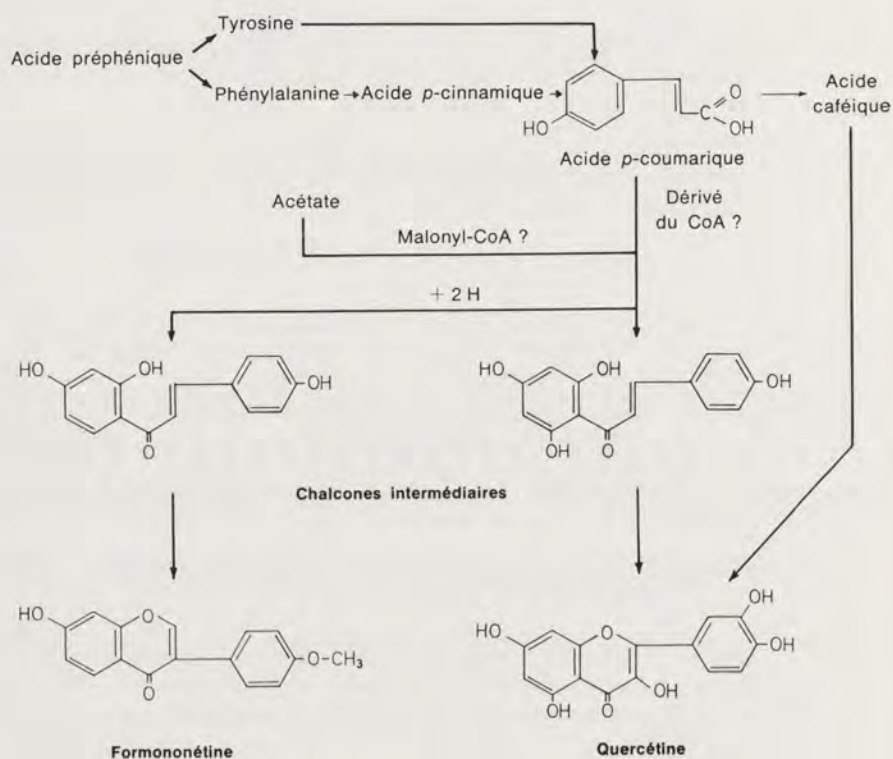


FIG. 15-12. Biosynthèse d'un flavonol (quercétine) et d'une isoflavone (formononétine) par l'intermédiaire de chalcones (d'après Bu'Lock).

6. Biosynthèse des alcaloïdes et des autres dérivés d'acides aminés

Les alcaloïdes, présents en grand nombre chez les végétaux, ne constituent pas un groupe chimique homogène. Ils contiennent tous de l'azote, fréquemment au sein d'un noyau hétérocyclique, et ils sont pour la plupart basiques (cationiques). Ils sont donc présents dans les cellules

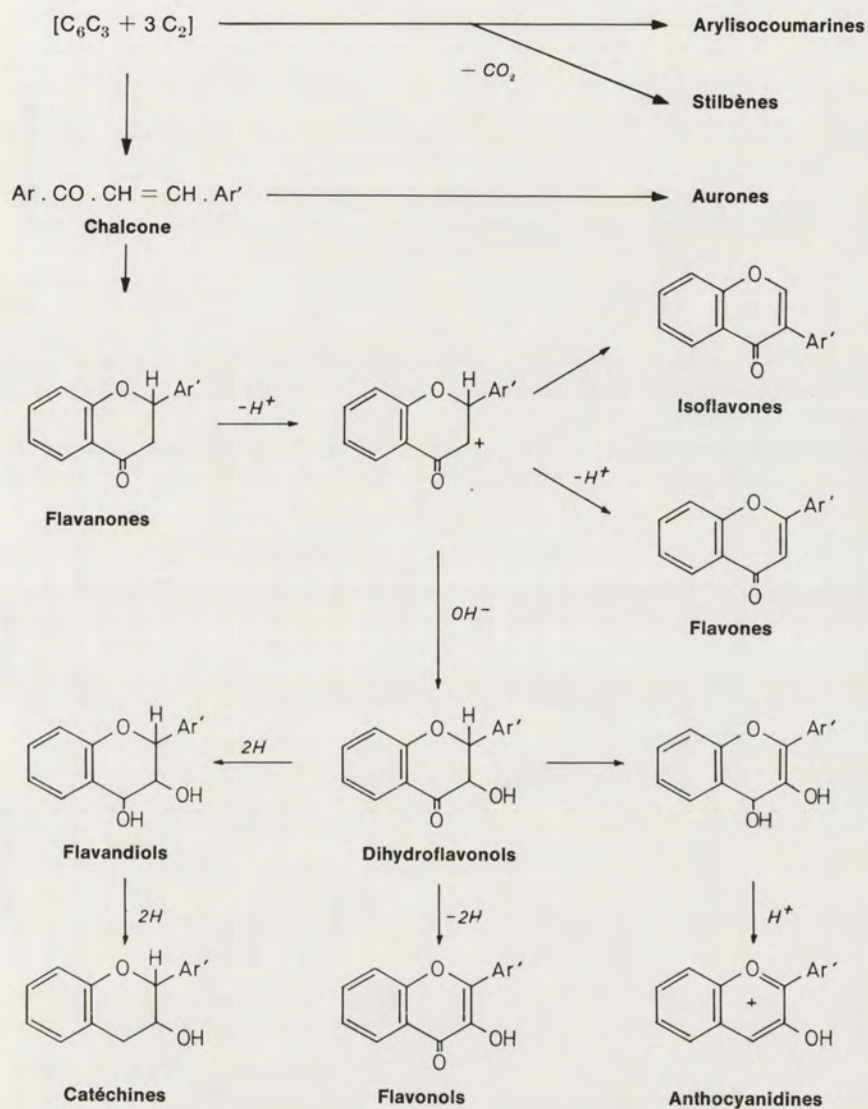


FIG. 15-13. Quelques exemples des voies métaboliques suivies par les flavonoïdes (d'après Bu'Lock).

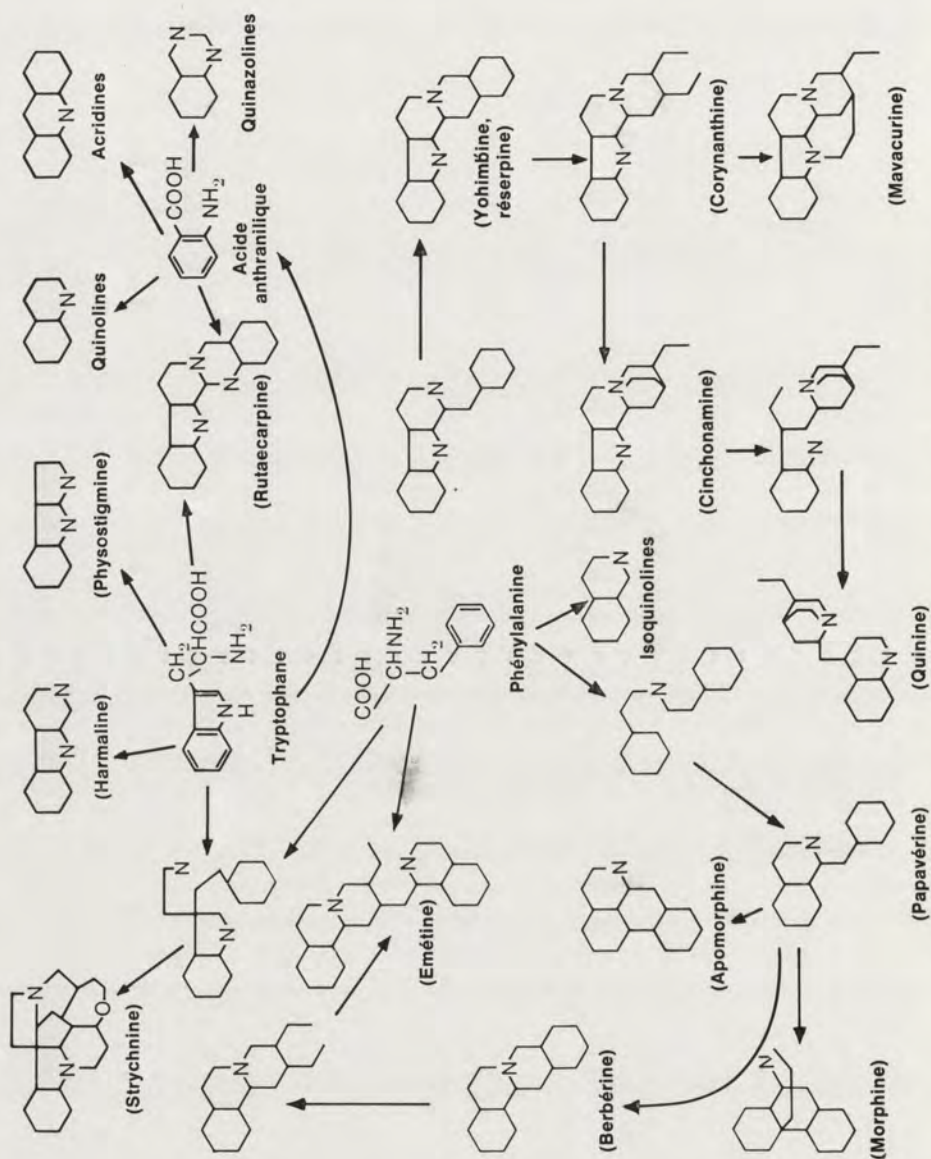


FIG. 15-14. Voies de la biosynthèse de certains alcaloïdes (d'après Robinson).

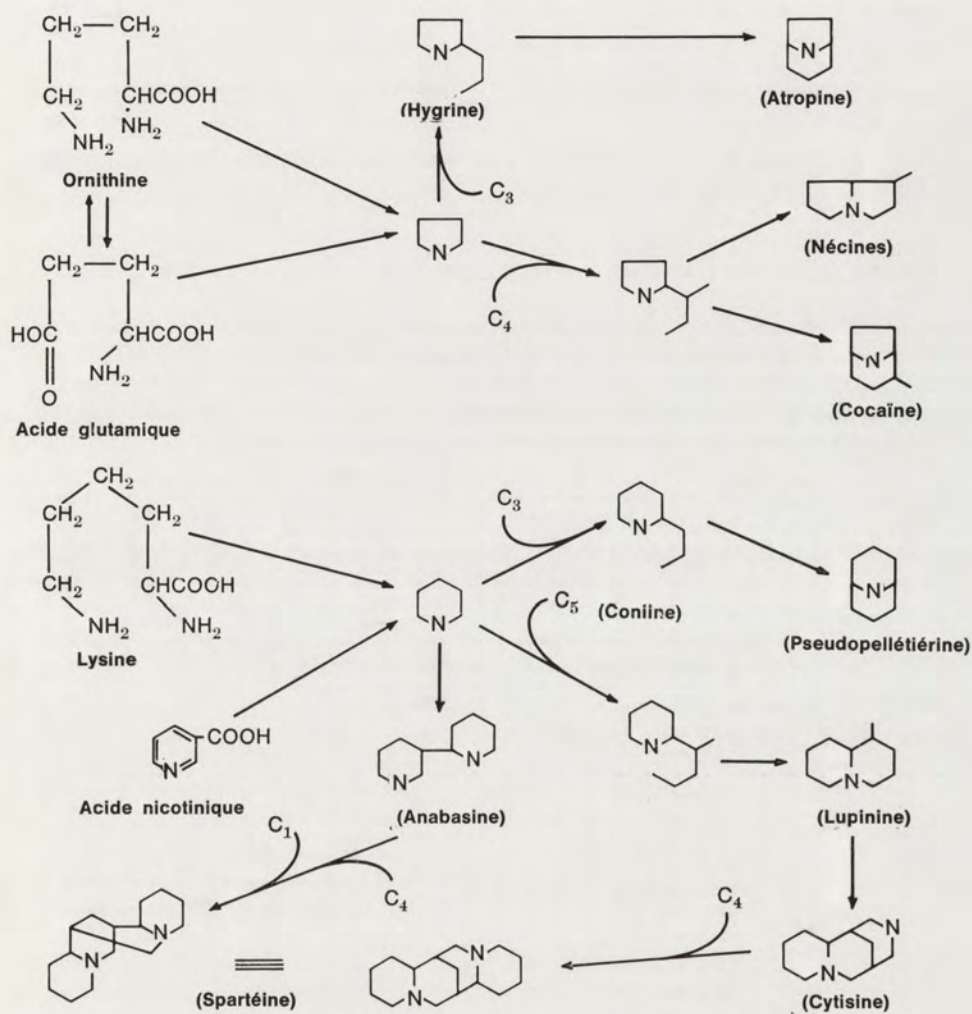


FIG. 15-15. Voies de la biosynthèse de certains alcaloïdes (d'après Robinson).

comme cations équilibrant des acides organiques et ils sont fréquemment isolés par traitement au moyen d'un acide.

Les principaux noyaux hétérocycliques azotés des alcaloïdes sont les suivants :

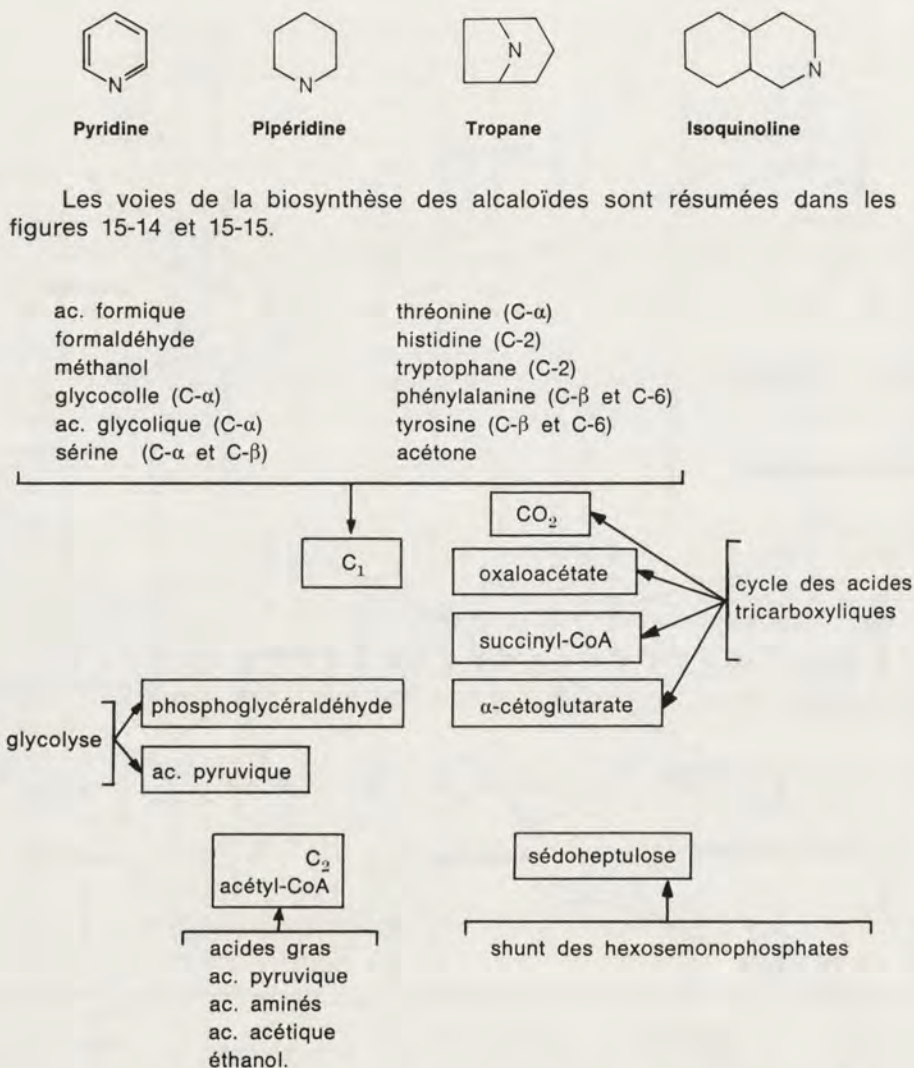


FIG. 15-16. Sources des principaux matériaux-clés des biosynthèses.

D. LE PRINCIPE D'ÉCONOMIE BIOSYNTHÉTIQUE

Les matériaux dont l'utilisation dans les synthèses a été mise en évidence sont énumérés, avec l'indication de leurs sources, dans la figure

15-16 et les formes de leur utilisation se voient dans la figure 15-17.

Les figures 15-17 et 15-18 montrent d'autre part, l'ensemble des voies des biosynthèses primaires et secondaires.

Un schéma tel que celui de la figure 15-17 nous enseigne, sous réserve des exceptions, que les organismes, au cours de leur diversification et de la réalisation de diverses synthèses adaptatives, n'ont pas multiplié à l'infini le nombre des voies biosynthétiques. Ils ont pratiqué une économie de ces voies en recourant souvent à des prolongements d'un petit nombre de lignées biosynthétiques auxquelles ils ont ajouté des extensions terminales ou latérales.

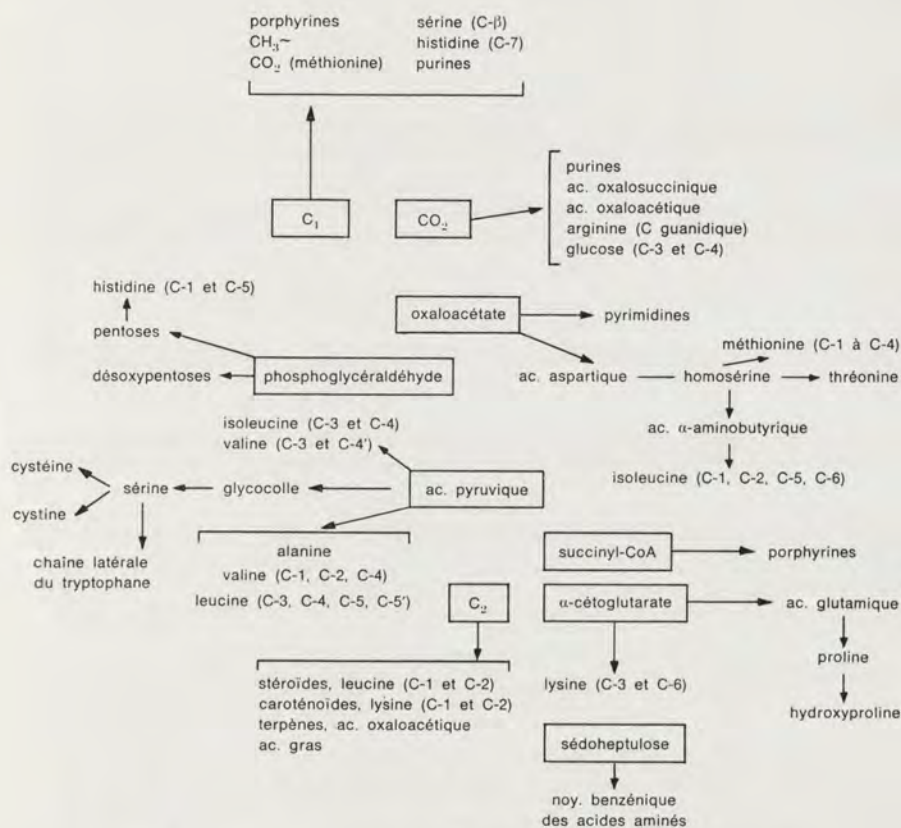


FIG. 15-17. Utilisation des différents matériaux-clés des biosynthèses.

Chacune des voies, avec ses ramifications, montre aussi la diversité des variantes que l'évolution a brodées sur un thème commun. Les régions externes du schéma représentent des biosynthèses plus spécialisées. C'est ainsi, par exemple, qu'on ne trouve les flavonoïdes que chez les plantes

vasculaires, et les anthocyanines surtout chez les angiospermes. Les coumarines sont biosynthétisées chez les dicotylédones et les composés terpéniques s'observent chez les plantes supérieures.

La biosynthèse des porphyrines débute au niveau du glycolyse et du succinyl-CoA dérivé du cycle de Krebs. L'acide δ -aminolévulinique et le porphobilinogène sont situés sur cette voie. Les végétaux prolongent la

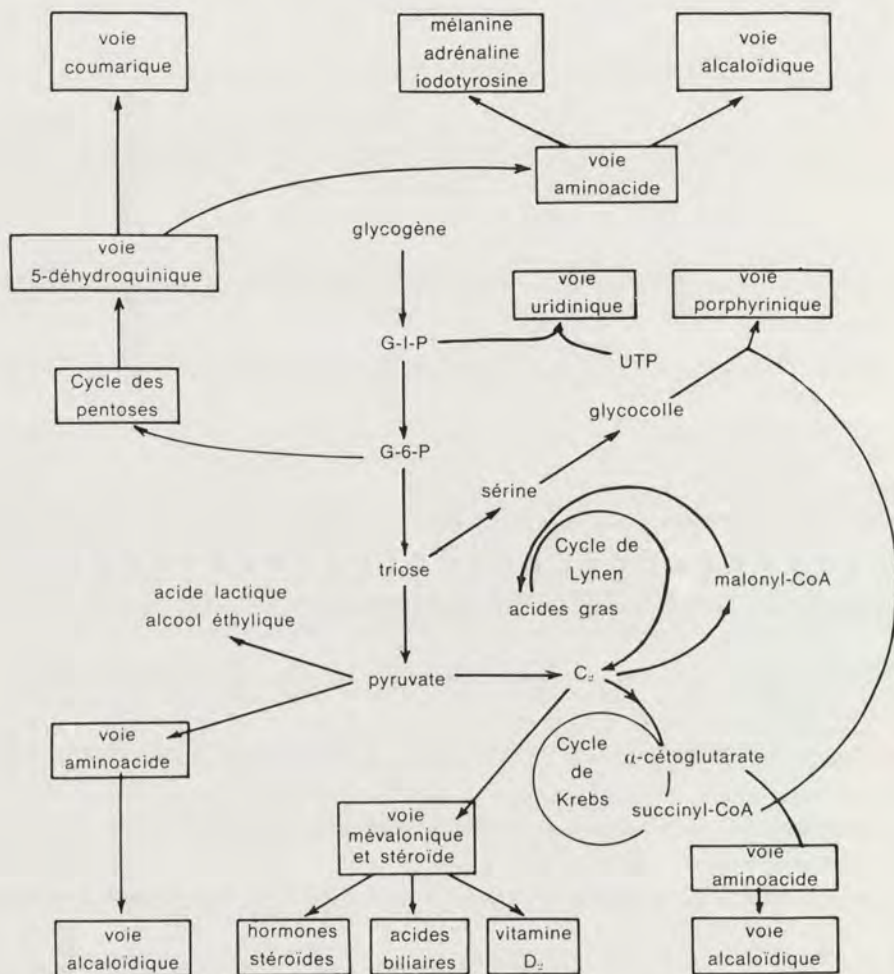


FIG. 15-18. Voies biosynthétiques.

biosynthèse des porphyrines à travers la branche ferreuse et la branche magnésienne tandis que cette dernière fait défaut aux animaux. Toutefois ces derniers ont développé particulièrement la branche ferreuse dans le sens de la biosynthèse du dérivé d'hème et de globine portant le nom d'hémoglobine.

Plus on va donc vers les régions externes du schéma de la figure 15-18 et plus on reconnaît des aspects qui, sous la forme d'extensions des lignées biosynthétiques, sont propres à des rameaux phylétiques particuliers.

A CONSULTER

- BU'LOCK, J. D., *The biosynthesis of natural products*. Mac-Graw Hill, London, 1965.
- FLORKIN, M., *Aspects moléculaires de l'adaptation et de la phylogénie*. Masson, Paris, 1966.
- FLORKIN, M., *A molecular approach to phylogeny*. Elsevier, Amsterdam, 1966.
- HENDRICKSON, J. B., *The molecules of nature*. Benjamin, New York, 1965.
- RICHARDS, J. H. et HENDRICKSON, J. B., *The biosynthesis of steroids, terpenes and acetogenins*. Benjamin, New York, 1964.
- ROBINSON, T., *The organic constituents of higher plants*. Burgess, Minneapolis, 1963.
- Comparative biochemistry* (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 3, 4 (1962). Academic Press, New York.
- Comprehensive biochemistry* (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 9, 10, 11 (1963), 15 (1964). Elsevier Publishing Co., Amsterdam.
- Metabolic pathways*, 2nd edit. of *Chemical pathways of metabolism* (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 1 (1960), 2 (1961). Academic Press, New York.
- Traité de biochimie générale* (Publié sous la direction de M. Javillier, M. Polonovski, M. Florkin, P. Boulanger, M. Lemoigne, J. Roche et R. Wurmser). Vol. 2, Fasc. 1. Masson, Paris, 1962.

CHAPITRE 16

DNA, RNA et synthèse protéique

I. L'acide désoxyribonucléique (DNA)	476
A. Structure du DNA	476
B. Synthèse du DNA	478
C. Rôle génétique du DNA	479
II. L'acide ribonucléique (RNA) : structure et synthèse	480
III. La synthèse protéique	483
A. Les ribosomes	483
B. Les différents types de RNA	483
C. L'activation et le transfert des acides aminés	485
D. Le code génétique	488
IV. Les virus	491
A. Structure de quelques virus	491
B. Reproduction et cycle biologique	492

Le noyau cellulaire est pour sa plus grande masse formé par un réseau de chromatine dans les mailles duquel se trouve le suc nucléaire. Pendant le processus de la mitose, le réticulum de chromatine se distribue en une série de chromosomes. Une partie importante des chromosomes est constituée par les gènes.

I. L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE (DNA)

A. STRUCTURE DU DNA

Chaque gène est formé par une séquence de nucléotides de désoxyribose au sein d'une macromolécule de DNA. Les nucléotides qu'on peut isoler du DNA sont les acides désoxyadénylique, désoxyguanylique, désoxycytidylique et thymidylique. Le DNA est relativement résistant aux alcalis et on le dégrade habituellement au moyen de désoxyribonucléase et de phosphodiesterase, l'action combinée de ces deux enzymes produisant un mélange de désoxyribonucléoside-5'-phosphates qu'on peut séparer par chromatographie.

Un DNA est une chaîne linéaire de désoxyribonucléotides unis par des liaisons phosphodiester 3'-5'. On le trouve dans le noyau, où il représente approximativement la moitié de la masse des chromosomes, mais aussi dans les mitochondries et les chloroplastes. La structure secondaire du DNA est en forme de double enroulement en hélice. Cette structure a d'abord été suggérée par Pauling et Corey (1953) à la suite de recherches au moyen de la méthode de diffraction des rayons X. Une autre structure en hélice tenant compte d'un plus grand nombre de faits a été ensuite proposée par Watson et Crick (1953) (Fig. 6-19). Elle comporte deux chaînes enroulées autour d'un même axe.

Les deux chaînes ont un enroulement parallèle, mais la suite des atomes est inverse. Les pyrimidines et les purines sont dirigées vers l'intérieur et les phosphates vers l'extérieur. Le long de l'enroulement, un nucléotide occupe une longueur de 3,4 Å, et l'unité qui se répète est constituée par une suite de dix nucléotides, longs de 34 Å. L'angle entre deux nucléotides adjacents dans la même chaîne est de 36°. Les bases puriques et pyrimidiques, étant dirigées vers l'intérieur, sont perpendiculaires à l'axe de l'enroulement et associées deux à deux, une purine et une pyrimidine, chacune appartenant à l'une des chaînes, pour former un barreau transversal de l'échelle enroulée, et jointes par des liaisons hydrogène. Il n'y a pas la longueur nécessaire pour mettre deux purines bout à bout, formant un barreau, et deux pyrimidines formeraient un pont trop court. Les seules liaisons possibles sont celles d'une purine et d'une pyrimidine. D'autre part, entre les deux purines, l'adénine et la guanine, entrant dans la composition des DNA, et les deux pyrimidines, cytosine et thymine, il ne peut exister de liaisons hydrogène qu'entre adénine et thymine ou guanine et cytosine (Fig. 16-1).

Dans le couple adénine-thymine, deux liaisons hydrogène sont mises en œuvre, entre le groupement aminé en C-4 de l'adénine et la fonction cétonique C-4 de la thymine, et entre les azotes N-3 de la thymine et de l'adénine. Dans le couple guanine-cytosine, trois paires de liaisons hydrogène interviennent : entre la fonction aminée en C-4 de la cytosine et le C-4 cétonique de la guanine, entre les deux azotes N-3 et entre le groupement aminé en C-2 de la guanine et le C-2 cétonique de la cytosine.

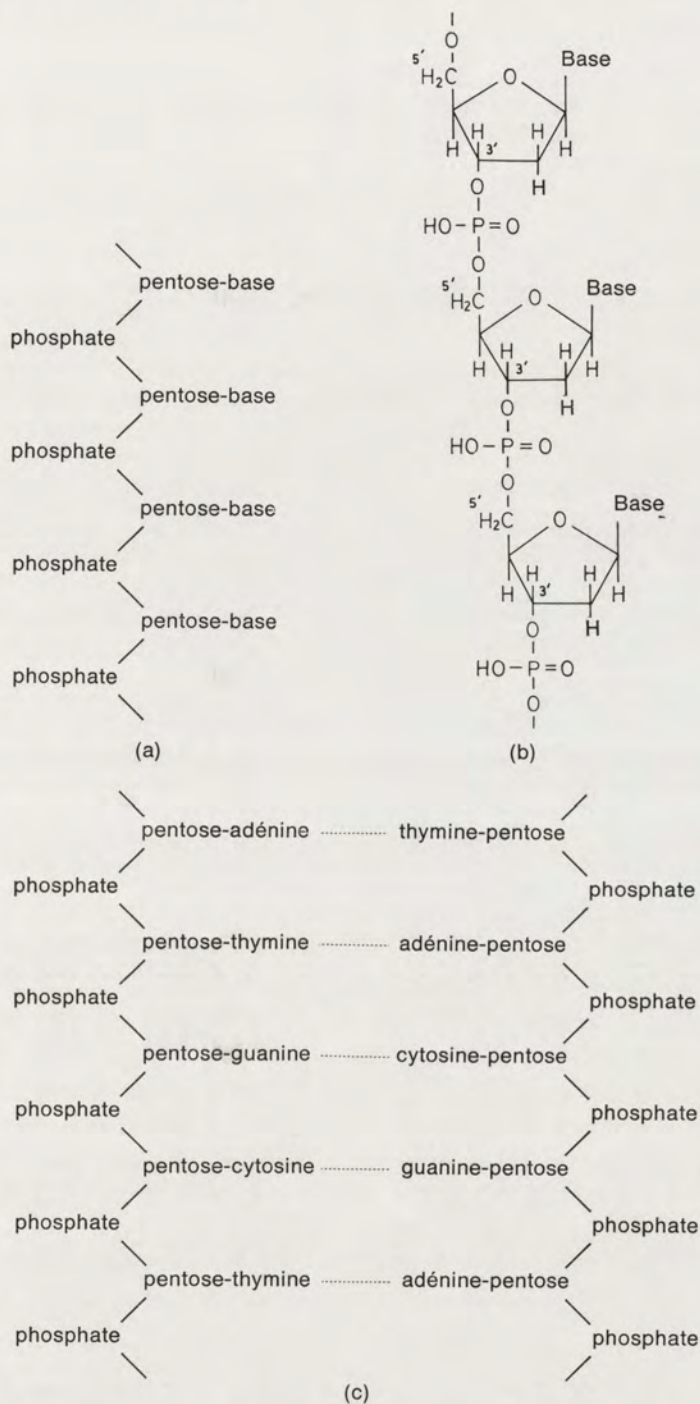


FIG. 16-1. Structure du DNA : (a) représentation schématique de la chaîne polynucléotidique ; (b) liaisons pentose-phosphate dans la chaîne du DNA ; (c) représentation schématique de la chaîne double de DNA, les lignes pointillées représentent des liaisons hydrogène.

B. SYNTHÈSE DU DNA

Le DNA peut être synthétisé *in vitro* en présence de la polymérase du DNA qu'on peut préparer à partir d'*E. coli*. Outre l'enzyme, le mélange réactionnel doit contenir :

- 1) les quatre désoxyribonucléosides triphosphates : dATP, TTP, dCTP et dGTP ;
- 2) des ions Mg^{++} ;
- 3) du DNA pour amorcer la synthèse.

Chaque chaîne libérée du DNA reconstitue la chaîne complémentaire. Le DNA synthétique obtenu présente la même structure primaire que le DNA d'amorçage. Si on répète l'opération en amorçant au moyen du DNA synthétique obtenu, cette structure primaire est reproduite dans la nouvelle synthèse. La polymérase du DNA n'est active que sur les triphosphates de désoxynucléosides, et la figure 16-2 donne une idée du processus.

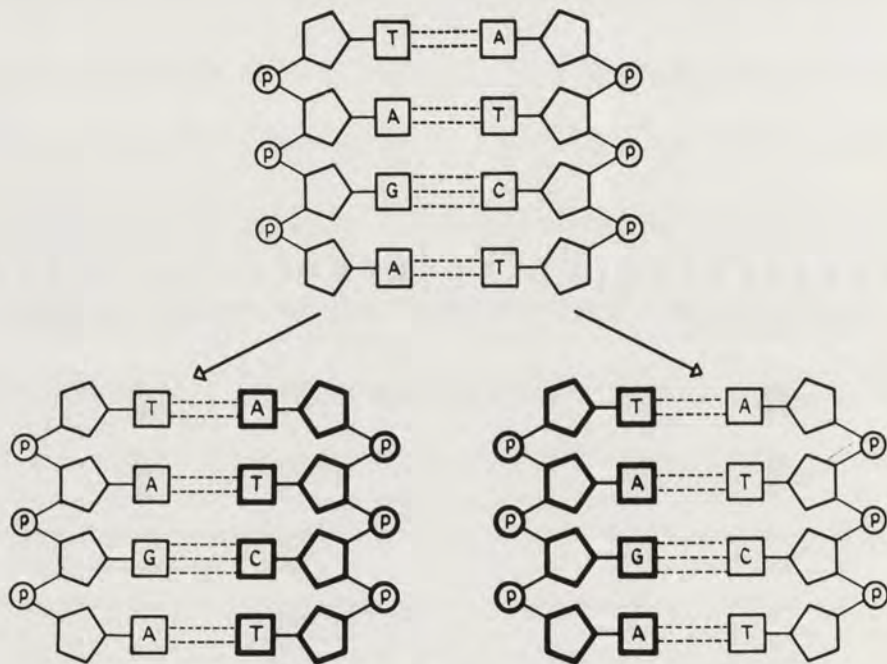


FIG. 16-2. Biosynthèse du DNA sous l'action de la DNA polymérase.

Comment s'opère la synthèse du DNA *in vivo* ?

Plusieurs théories ont été avancées à ce sujet. La plus vraisemblable admet le déroulement préalable de la double hélice du DNA et la séparation des deux montants de l'échelle, porteurs chacun de leur fragment de barreau transversal. La structure secondaire du DNA serait donc supprimée,

mais la structure primaire subsisterait au niveau de chaque chaîne (Fig. 16-3).

La découverte de la polymérase du DNA a donné à ce schéma beaucoup de vraisemblance.

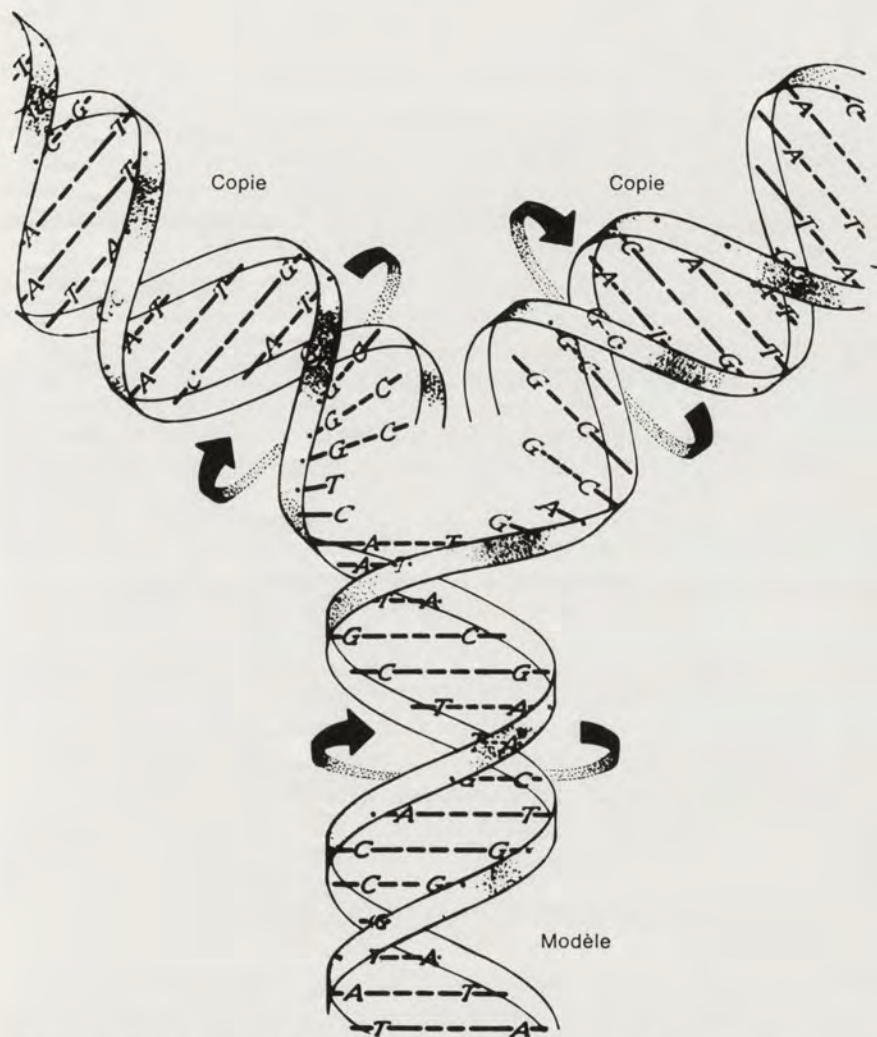


FIG. 16-3. Réplication du DNA selon l'hypothèse de Watson et Crick (d'après Stent).

C. RÔLE GÉNÉTIQUE DU DNA

En 1944, Avery, MacLeod et McCarty publièrent des observations relatives à la transformation de certaines bactéries sous l'influence de molécules de DNA. Parmi les pneumocoques existent des types différents par la nature de la capsule entourant la membrane de la cellule bactérienne.

Certaines cellules ne sont pas encapsulées. Si on ajoute à une culture de ces dernières, du DNA d'un pneumocoque à capsule, le type habituellement non encapsulé forme une capsule. Si on abolit par un procédé quelconque la structure secondaire ou la structure primaire du DNA, il devient sans effet. C'est dans ces expériences que s'est, pour la première fois, manifesté le rôle génétique du DNA. Appuyées par les recherches relatives aux virus, ces notions ont amené à reconnaître que le DNA est le composant génétiquement actif des chromosomes et le porteur de l'information génétique.

Actuellement, il est admis que le DNA est le responsable de la structure primaire des protéines et que, d'autre part, il accomplit sa fonction de transmetteur génétique d'une génération à une autre, par le processus de la réplication, les macromolécules du DNA des parents servant de guide pour la synthèse du DNA des descendants.

Le *crossing-over* (tout au moins dans le cas du bactériophage) est le résultat de la brisure de molécules de DNA en double hélice et de la recombinaison des segments dans un ordre différent.

L'information génétique transmise par le DNA est le résultat de la nature des séquences des unités d'adénine, de guanine, de cytosine et de thymine. Si dans une très longue molécule de DNA, de la nature de celles qui constituent les chromosomes, il existe n nucléotides, le nombre des combinaisons possibles de séquences sera égal à 4^n . Au moyen des quatre bases constituant le DNA, on peut considérer la possibilité de l'existence de 4^{1500} gènes de poids moléculaire égal à 10^6 (ce qui correspond à la moyenne de dimension d'un gène : 1 500 paires de nucléotides).

Comme il n'y a que quatre bases dans les DNA et comme vingt acides aminés entrent dans la composition des protéines, chaque acide aminé ne peut être « codé » que par plusieurs bases, en fait, comme de nombreux faits génétiques l'indiquent, par trois nucléotides (triplet). Un gène contenant 1 500 paires de nucléotides déterminera donc la séquence d'un polypeptide contenant 500 acides aminés.

Une molécule de DNA peut correspondre à plusieurs gènes.

Quant à la synthèse des protéines, le DNA ne la commande pas directement, mais indirectement par un processus de transcription au cours duquel les molécules de DNA commandent la synthèse de molécules de RNA, transmetteurs secondaires de l'information génétique.

II. L'ACIDE RIBONUCLÉIQUE (RNA) : STRUCTURE ET SYNTHÈSE

RNA : La structure primaire du RNA est, comme dans le cas du DNA, celle d'un polyribonucléotide linéaire, dans lequel les liaisons s'établissent par des ponts phosphodiester 3'-5'.

Le RNA est hydrolysé soit en présence d'alcalis, soit par la ribonucléase et la phosphodiesterase. L'hydrolyse en présence de ribonucléase s'accomplit avec comme terme intermédiaire le nucléoside -2', 3'-phosphate (Fig. 16-4 et 16-5).

Le RNA diffère du DNA, d'abord parce que le ribose remplace dans sa structure le désoxyribose. D'autre part, le RNA ne contient pas de thymine, remplacée par de l'uracile. Les molécules de RNA sont, d'autre part, dans la généralité des cas, composées d'une seule séquence de nucléotides. *In vitro*, la polymérase du RNA, en présence d'ATP, GTP, CTP et UTP, catalyse la reproduction d'une séquence de RNA à partir de DNA.

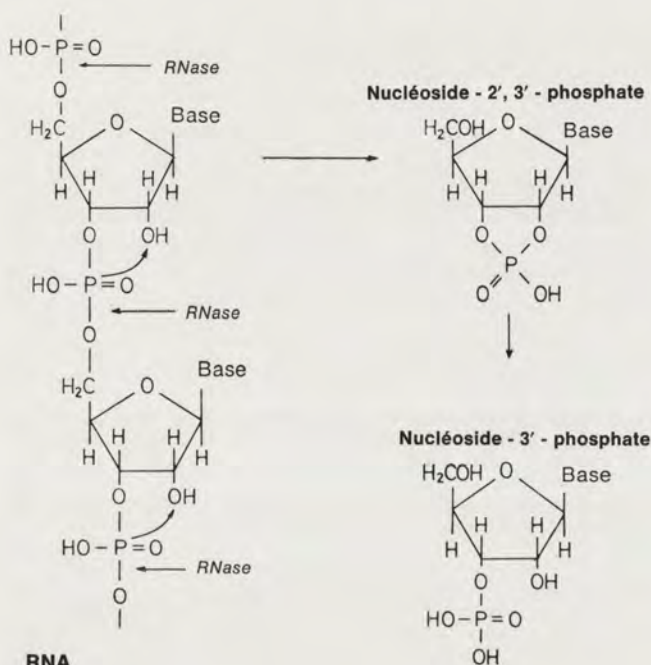


FIG. 16-4. Mécanisme de l'hydrolyse du RNA par la ribonucléase.

Les deux chaînes du DNA se séparent, la chaîne de RNA copie, en réplique, la séquence d'une des chaînes du DNA et les deux chaînes de DNA se recombinaient avec libération de la chaîne simple de RNA (Fig. 16-6).

Les expériences réalisées en présence de la polymérase du RNA ont rendu plausible la notion selon laquelle la transcription du message du DNA est accomplie au niveau du RNA. La plus grande portion du RNA cellulaire est située dans le cytoplasme. Toutefois le site principal de la synthèse du RNA est le noyau, où est localisée principalement la polymérase du RNA.

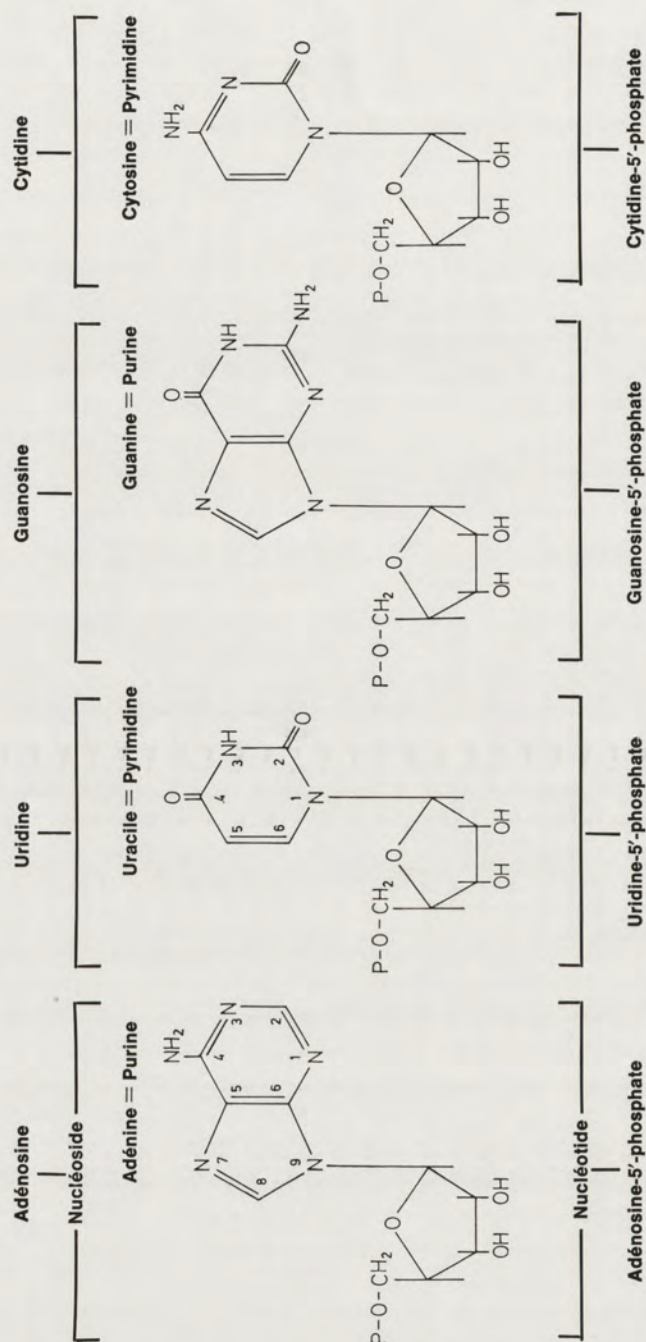


FIG. 16-5. Les nucléotides intervenant dans la structure du RNA.

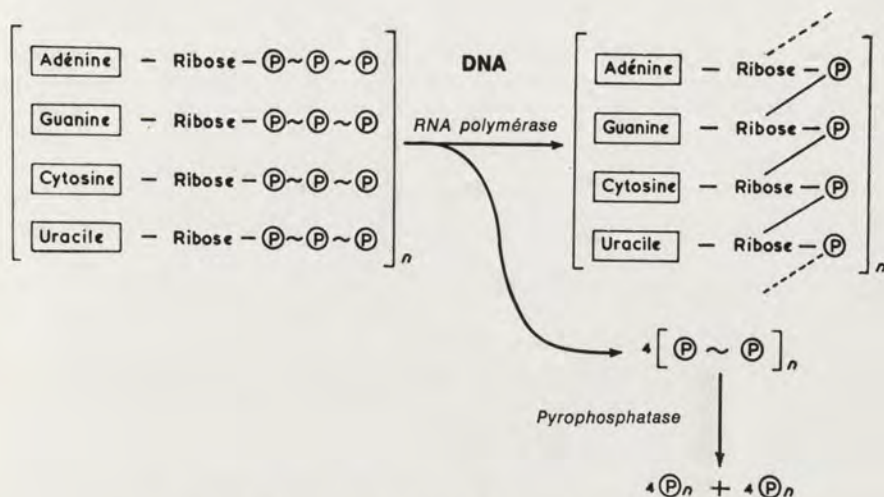


FIG. 16-6. Synthèse enzymatique du RNA à partir de DNA.

III. LA SYNTHÈSE PROTÉIQUE

A. LES RIBOSOMES

De nombreux faits indiquent que la synthèse protéique s'accomplit, dans le cytoplasme, au niveau des ribosomes. Les ribosomes sont des particules arrondies ou légèrement asymétriques dont le diamètre est de 100 à 200 Å. On les voit parfaitement sur les micrographies électroniques. Parfois ils sont attachés au réticulum endoplasmique, mais dans d'autres cas ils sont libres dans le cytoplasme. Approximativement la moitié de leur masse est constituée de RNA, le reste étant formé par des protéines (nucléoprotéines) avec une concentration élevée de Mg^{++} combiné, qui paraît jouer un rôle de facteur stabilisant. On désigne souvent les ribosomes par leur coefficient de sédimentation en unités Svedberg. Les ribosomes d'*E. coli* sont par exemple appelés 70 S. La figure 16-7 montre qu'ils sont constitués, comme le sont généralement les ribosomes, de particules dissociables.

B. LES DIFFÉRENTS TYPES DE RNA

L'existence d'un RNA messager, métaboliquement instable, formé dans le noyau et gagnant les ribosomes où il sert de modèle pour la synthèse protéique, a été établie par de nombreuses expériences. Toutefois, même si un RNA messager (mRNA) quitte le noyau et se retrouve au niveau des ribosomes, lesquels sont constitués de nucléoprotéines dont les acides nucléiques sont d'une autre nature (rRNA) le problème reste entier de la

fixation des acides aminés au niveau du modèle. Les acides aminés doivent, pour que puisse s'accomplir cette fixation, être portés par un adaptateur qui est lui-même un acide nucléique d'une espèce différente de celle du mRNA et du rRNA. Ce sont des molécules relativement petites, appelées tRNA (RNA de transfert) ou sRNA (RNA soluble). Les molécules de sRNA sont des chaînes simples contenant environ 80 nucléotides (poids moléculaire voisin de 25 000), l'extrémité 3' de la chaîne se terminant par la séquence acide cytidylique-acide cytidylique-acide adénylique, et son extrémité 5' se terminant par l'acide guanylique.

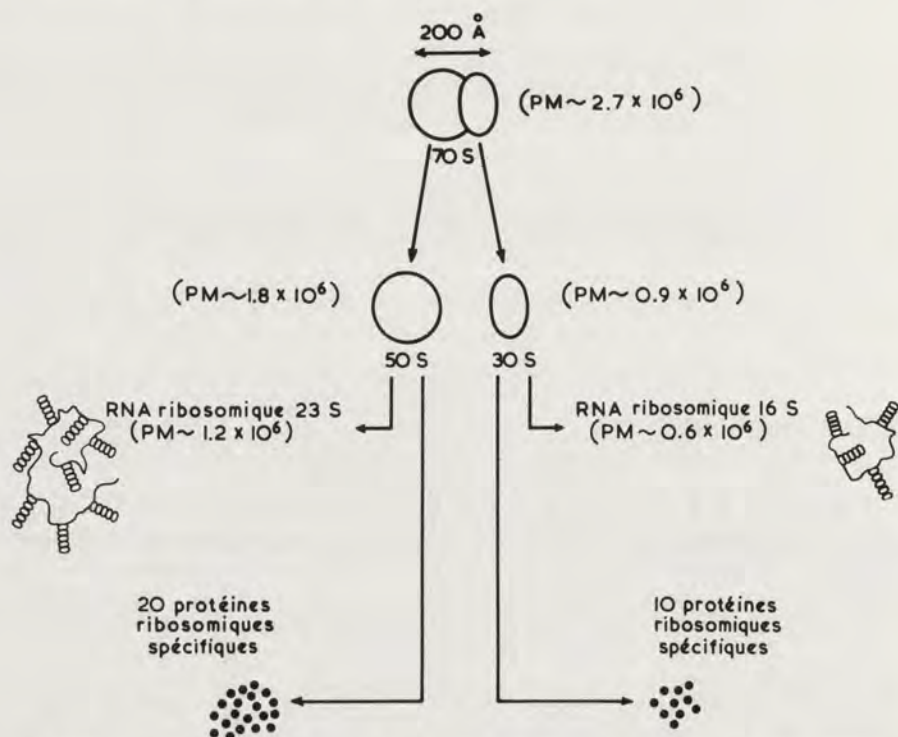


FIG. 16-7. Représentation schématique de la structure du ribosome 70 S de *E. coli* montrant les poids moléculaires et les constantes de sédimentation des particules dissociables. La formation d'un ribosome 70 S à partir des particules 50 S et 30 S dépend de la concentration en Mg. C'est un phénomène réversible et à la concentration en Mg trouvée dans une culture de *E. coli* en croissance, 70 à 90 % des particules sont sous la forme de ribosomes 70 S (d'après Watson).

La chaîne est repliée en épingle à cheveu et les deux branches sont associées en hélice par des barreaux de même nature que ceux du DNA (A-U ; G-C). La convexité terminale porte trois bases libres de nature à pouvoir contracter une liaison avec un codon de mRNA (voir plus loin).

On connaît la structure complète d'un sRNA, celui de l'alanine sRNA de la levure, c'est-à-dire de celui auquel, en présence d'un enzyme spécifique, l'alanine s'attache spécifiquement. La séquence des 77 nucléotides constitutants est représentée dans la figure 16-8.

Comme la figure l'indique, parmi les nucléotides constitutants, il existe une portion relativement importante de bases non usuelles (autres que A, G, C, U) et qui sont surtout des produits de la méthylation plus ou moins

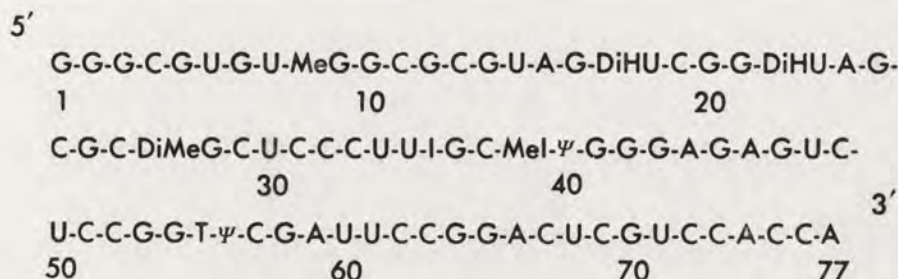


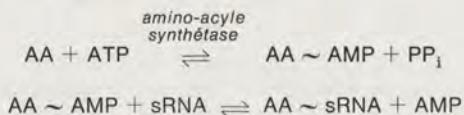
FIG. 16-8. Séquence des nucléotides du sRNA de levure fixant spécifiquement l'alanine. La séquence débute conventionnellement par le nucléotide fixé en 5' (d'après Watson).

marquée des bases usuelles (Fig. 16-9). On suggère d'admettre que ces bases non usuelles produiraient des interruptions dans la continuité des barreaux de la double hélice de l'épingle à cheveu, ce qui permettrait aux extrémités libres de contracter des liaisons secondaires par exemple avec le mRNA.

C. L'ACTIVATION ET LE TRANSFERT DES ACIDES AMINÉS

Les acides aminés s'attachent au sRNA, en présence d'enzymes spécifiques pour chaque acide aminé (amino-acyl-RNA synthétases) et en présence d'ATP, à l'extrémité —CCA du sRNA, laquelle contracte une liaison covalentielle avec le carboxyle de l'acide aminé.

En présence d'ATP et de l'amino-acyle synthétase spécifique, l'acide aminé forme un adénylate qui reste combiné à l'enzyme jusqu'à sa rencontre avec le sRNA spécifique, l'acide aminé (AA) étant alors transféré sur le résidu terminal adénylique du sRNA.



Portés par leurs adaptateurs, les acides aminés gagnent les surfaces sur lesquelles se sont adaptés les modèles de mRNA. Comme le montre la figure 16-7, les ribosomes sont toujours constitués de deux portions, l'une plus grande, l'autre plus petite et toutes deux de nature nucléoprotéique. Les ribosomes contiennent deux catégories de rRNA, de poids moléculaires différents. Dans la petite portion du ribosome, se trouve la plus petite molécule de rRNA (poids moléculaire d'environ 1/2 million) l'autre de poids moléculaire plus élevé (1 million) se trouvant dans le gros

fragment. Certaines portions des rRNA sont à chaîne simple et d'autres à double hélice. Les deux portions du ribosome contiennent diverses protéines spécifiques.

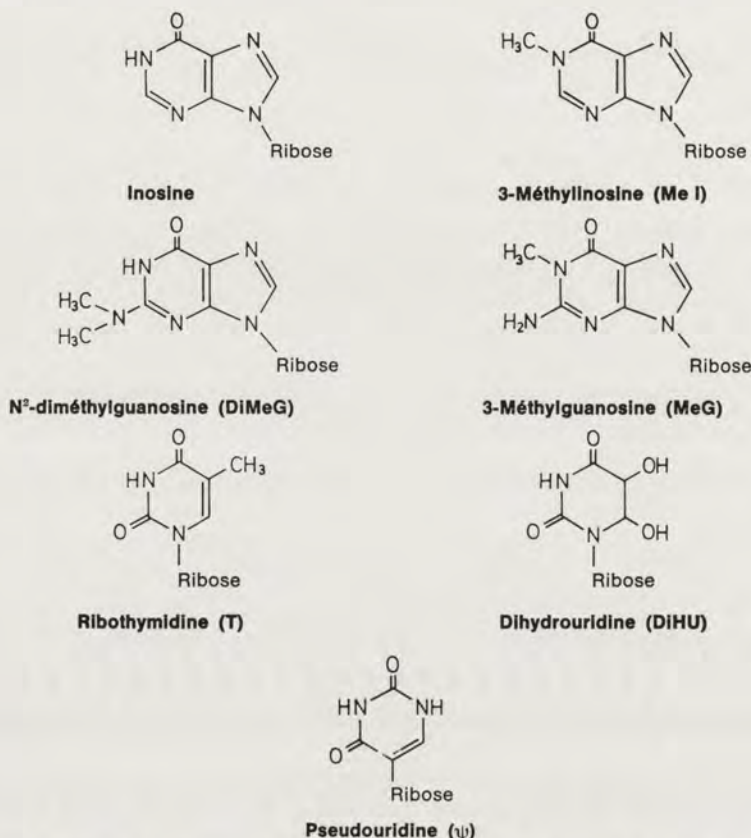


FIG. 16-9. Structure de certains nucléotides rares trouvés dans un sRNA de levure fixant spécifiquement l'alanine.

Le rôle du ribosome dans la synthèse protéique reste mystérieux. Les poids moléculaires des mRNA sont très différents. La portion du mRNA en contact avec un ribosome déterminé est relativement courte, de sorte qu'une macromolécule de RNA peut être simultanément en contact avec une série de ribosomes et glisser sur la surface d'une série de ribosomes formant ce qu'on appelle alors un polyribosome (Fig. 16-10).

La formation d'une chaîne polypeptidique débute par l'insertion d'un acide aminé combiné à un sRNA entre la portion la plus grosse d'un ribosome et le premier codon du mRNA, spécifique de la combinaison acide aminé - sRNA (AA-sRNA). Un deuxième AA-sRNA est alors fixé et la spécificité de l'acide aminé est déterminée par le deuxième codon. Dès que le deuxième acide aminé est fixé sur son codon, les sRNA se libèrent et une liaison peptidique est établie enzymatiquement entre les deux acides aminés. Le carboxyle est activé par sa liaison avec le sRNA, mais néan-

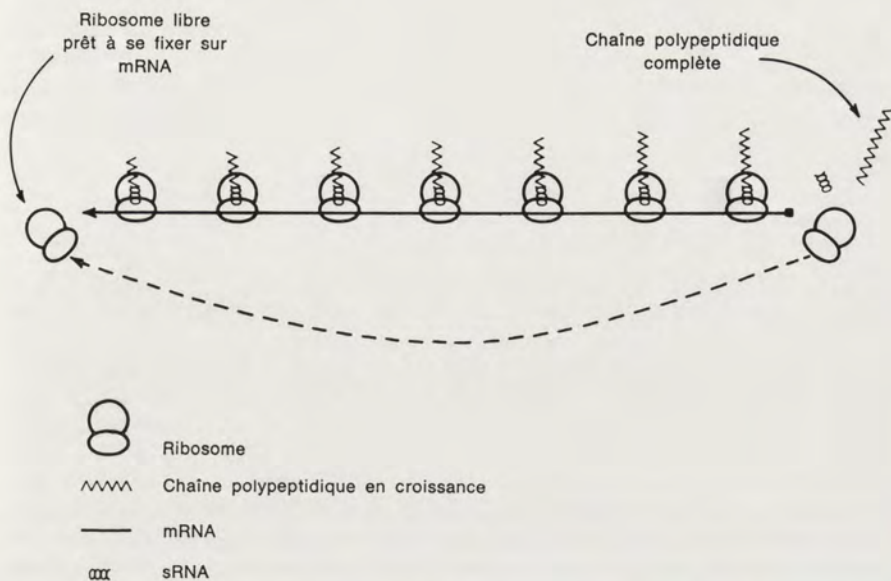


FIG. 16-10. Représentation schématique d'un polyribosome au cours de la synthèse d'une protéine. La molécule de mRNA se déplace dans la direction de la flèche (d'après Watson).

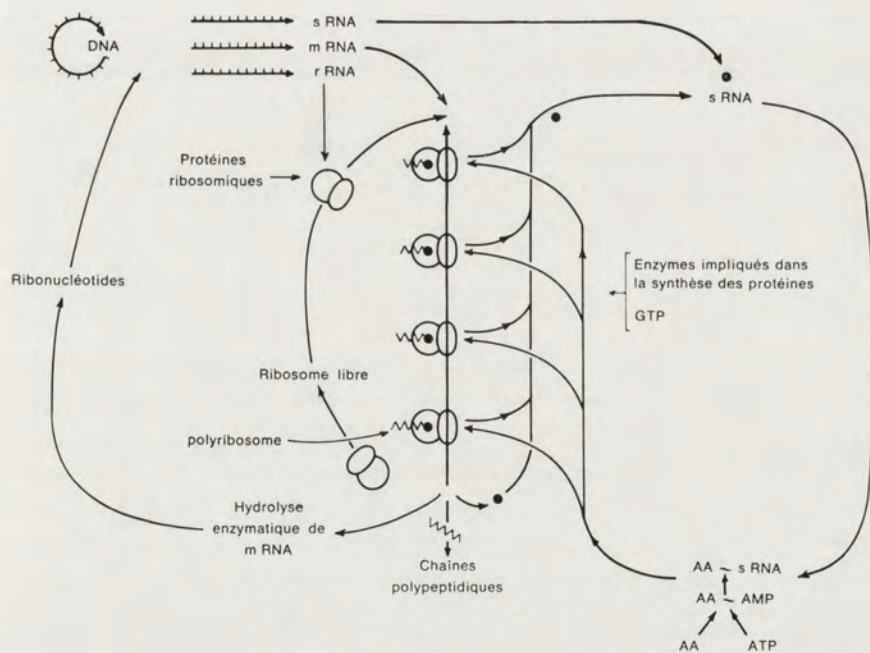


FIG. 16-11. Le rôle des RNA dans la synthèse protéique (d'après Watson).

moins deux enzymes différents interviennent dans la formation de la liaison peptidique. Il est aussi nécessaire que des molécules de guanosine-triphosphate (GTP) soient présentes. Le processus est encore mal compris.

L'intervention des différents RNA dans la synthèse protéique est représentée dans le schéma de la figure 16-11.

D. LE CODE GÉNÉTIQUE

S'il est vrai que c'est la nature du DNA au départ du processus qui est responsable de la nature spécifique de la protéine formée, comment une séquence de nucléotides, formée au moyen des quatre bases entrant dans la composition du DNA, peut-elle commander la séquence des acides aminés au sein d'une chaîne polypeptidique ? Il s'agit d'un message écrit dans un alphabet de quatre lettres, et transcrit dans un alphabet de 20 lettres, puisque 20 acides aminés entrent dans la constitution des protéines. Une seule base, A, T, C ou G ne peut transmettre le message qui ne s'adresserait qu'à quatre acides aminés. Des paires de base ne formeraient que seize messages, même si on considère que AT diffère de TA, ce qui est peu vraisemblable :

AA	AT	AC	AG
TA	TT	TC	TG
CA	CT	CC	CG
GA	GT	GC	GG

Si trois bases forment le message pour un acide aminé, ce qui est conforme aux enseignements de la génétique, et puisque les quatre bases peuvent former 64 triplets, nous pouvons avoir 64 mots de trois lettres, c'est-à-dire plus qu'il ne faut pour « coder » vingt acides aminés.

Tableau 16-1

LES 64 POSSIBILITÉS DE CODONS DE TROIS LETTRES

AAA	AAG	AAC	AAU
AGA	AGG	AGC	AGU
ACA	ACG	ACC	ACU
AUA	AUG	AUC	AUU
GAA	GAG	GAC	GAU
GGA	GGG	GGC	GGU
GCA	GCG	GCC	GCU
GUA	GUG	GUC	GUU
CAA	CAG	CAC	CAU
CGA	CGG	CGC	CGU
CCA	CCG	CCC	CCU
CUA	CUG	CUC	CUU
UAA	UAG	UAC	UAU
UGA	UGG	UGC	UGU
UCA	UCG	UCC	UCU
UUA	UUG	UUC	UUU

Mais quels sont les codons de trois lettres correspondant à chacun des vingt acides aminés ? La réponse à cette question a été apportée par des expériences de synthèse protéique *in vitro*, en présence d'extraits

de cellules d'*Escherichia coli*. On ajoute à ces extraits des acides aminés marqués au moyen d'isotopes (^3H , ^{14}C ou ^{35}S), on doit aussi ajouter du mRNA, lequel est rapidement dégradé dans les extraits. Bien que cette synthèse *in vitro* soit de faible intensité, elle peut être détectée grâce à la présence des isotopes. D'autre part la protéine synthétisée est bien celle qui correspond *in vivo* au mRNA utilisé comme cela a été démontré grâce à l'emploi de RNA à une seule chaîne qui est le matériel génétique de certains virus. Dès qu'il a été possible de faire des synthèses de polyribonucléotides, en présence de phosphorylase de polynucléotides, l'activité de ces composés en tant que jouant le rôle de mRNA a été soumise au test de l'expérimentation *in vitro*, laquelle a montré que le poly U détermine la synthèse de polyphénylalanine.

On avait donc ainsi un polynucléotide de synthèse jouant le rôle du mRNA dans un système de synthèse de protéines *in vitro*. Des expériences du même genre au moyen de poly C et de poly A ont montré que si (UUU) peut constituer le codon de la phénylalanine, (CCC) peut jouer le même rôle pour la proline, et (AAA) pour la lysine.

On a alors utilisé des copolymères mixtes. Les molécules de poly AC contiennent huit codons différents : (CCC), (CCA), (CAC), (ACC), (CAA), (ACA), (AAC), et (AAA). Quand le poly AC est utilisé dans une expérience de synthèse *in vitro*, il suscite l'incorporation non seulement de proline (CCC) et de lysine (AAA) mais encore d'asparagine, de glutamine, d'histidine et de thréonine. Les proportions de ces différents acides aminés dépendent des proportions relatives A/C dans le copolymère AC. Si on utilise un copolymère contenant beaucoup plus de A que de C, on provoque l'incorporation de beaucoup plus d'asparagine que d'histidine d'où on déduit que le codon de l'asparagine contient sans doute 2A et 1C et que celui de l'histidine contient sans doute 2C et 1A.

Il suffit que le trinucéotide complémentaire au triplet porté par le sRNA à son extrémité convexe soit présent, pour que le sRNA spécifique se fixe au ribosome en l'absence de mRNA. Le trinucéotide peut donc remplacer un segment du RNA. Par exemple, le trinucéotide $5'\text{GUU}3'$ suscite la fixation au ribosome, du sRNA spécifique de la valine, et le même effet existe dans le cas de $5'\text{UGU}3'$ pour le sRNA de la cystéine et dans celui de $5'\text{UUG}3'$ pour le sRNA de la leucine. Dans ces cas, il n'y a évidemment pas de synthèse de polypeptide. D'autre part, la synthèse de polyribonucléotides à séquence alternant de manière régulière a permis de recueillir des données supplémentaires. CUCUCUCU..., par exemple, agit comme messager pour la formation d'un polypeptide à séquence montrant une alternance régulière Leu-Ser-Leu-Ser... UGUGUG... produit un polypeptide contenant de la cystéine et de la valine.

Ces diverses méthodes permettent, au moment où nous rédigeons ce texte, de proposer le code du tableau 16-2.

Toutefois, l'un des résultats de l'ensemble de ces faits est que plusieurs codons peuvent correspondre à un seul et même acide aminé. La phénylalanine n'est pas seulement « codée » à (UUU). Elle peut l'être aussi à (UUC). (UCU) et (UCC) « codent » tous deux pour la sérine. C'est ce qu'on exprime en disant que le code est « dégénéré ». Il ressort des données aujourd'hui acquises que si la troisième base d'un codon est la cytosine (C), l'uracile (U) peut la remplacer et vice versa. Mais la clef

de la dégénérescence n'est pas de manière générale dans la prédominance de la nature des deux premières bases.

Au cours des mutations, un codon peut être, dans une séquence, remplacé par un autre. Si le remplaçant est lui-même un codon pour un autre acide aminé, la mutation est dite contresens, parce que si le codon nouveau ne correspond pas à un acide aminé, il s'agit d'un non-sens.

Tableau 16-2
LE CODE GÉNÉTIQUE DANS SA FORME ACTUELLE

Première position (extrémité 5')	Deuxième position			Troisième position (extrémité 3')	
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	non-sens		A
	Leu	Ser	non-sens	Try	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
		Pro	Gln	Arg	A
		Pro	Gln	Arg	G
A	Ileu	Thr	Asn	Ser	U
	Ileu	Thr	Asn	Ser	C
	Ileu	Thr	Lys	Arg	A
	Meth	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

L'ordre des nucléotides pour les codons apparaissant en caractères gras n'est pas fermement établi.

Comme il est bien établi aujourd'hui qu'un même mRNA peut coder toute une série de polypeptides, il apparaît que ce sont des sections définies du même mRNA qui sont mises en jeu dans les différents cas. Il doit donc exister des signaux de départ et d'arrêt le long d'une séquence de mRNA, signaux résidant sans doute dans des codons spécifiques. D'autre part, dans les systèmes *in vitro*, la présence de certains constituants peut amener des erreurs de lecture. S'il est vrai, comme nous l'avons dit que (UUU) code pour la phénylalanine dans les conditions d'un système expérimental défini, il code au contraire pour la leucine en présence d'un excès d'ions Mg^{++} . Il faut donc n'étendre les résultats des expériences *in vitro* qu'avec précaution à ce qui se passe *in vivo*. Il existe en effet des gènes modifiant la lecture du code, et d'autre part une altération de structure des ribosomes apparaît comme modifiant aussi cette lecture. C'est le cas lors de l'addition de streptomycine qui, se combinant aux ribosomes, altère l'interaction normale du sRNA avec le mRNA.

Il apparaît que le code a une valeur générale chez les différentes formes d'êtres vivants. Ceci laisse supposer que le code a persisté dans sa forme au cours d'une longue période d'évolution. Toutefois, avant d'admettre ce concept, il est préférable d'attendre l'élucidation complète

de la nature du code *in vivo* chez un grand nombre d'organismes. D'ores et déjà il semble toutefois que, dans les limites de l'arbre phylétique des organismes que nous connaissons, s'il est vrai que nous saisissons, à l'échelle moléculaire aussi bien qu'aux autres, le phénomène de l'évolution organique, il n'y a pas d'évolution du code, qui apparaît comme restant immuable à travers la phylogénie.

IV. LES VIRUS

A. STRUCTURE DES VIRUS

Les virus sont les particules biologiques les plus petites qui soient douées de la faculté d'autoreproduction. Leur diamètre est dans la plupart des cas, compris entre 10 et 200 m μ . Ils ne peuvent se reproduire que dans des cellules. Les plus petits sont uniquement formés d'un noyau d'acide

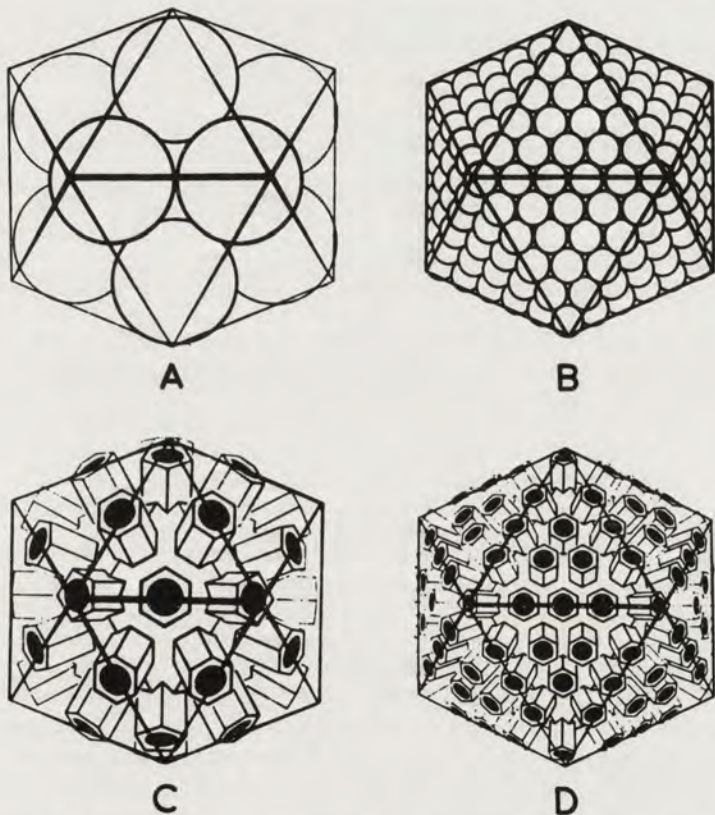


FIG. 16-12. Schéma illustrant la structure de quelques virus (d'après Steiner).

A. Bactériophage $\Phi \times 174$.

B. Adénovirus.

C. Virus du polyome.

D. Herpes.

nucléique entouré de protéine. L'acide nucléique peut être le DNA ou le RNA. Les virus sont des parasites pathogènes chez les animaux, les végétaux ou même chez les bactéries (bactériophages).

Examinés au microscope électronique, les virus se montrent formés de particules associées selon une structure régulière et symétrique. Les protéines forment les unités ou *capsomères* dont l'ensemble constitue l'enveloppe ou *capside* du virus. Les capsomères sont souvent disposés en forme de polyèdre à 20 faces et à symétrie cubique, l'*icosaèdre*, dont chaque face est un triangle équilatéral. D'autres virus simples ont la forme du *tétraèdre* (4 faces) ou du *dodécaèdre* (12 faces).

Le bactériophage $\Phi \times 174$ consiste en 12 capsomères disposés en icosaèdre. Le virus de l'herpès est formé de 162 capsomères, en icosaèdre eux aussi. Les capsomères sont des prismes creux allongés dont douze situés aux pointes sont de section pentagonale et 150 autres de section hexagonale occupent les faces et les arêtes. L'adénovirus est constitué de 252 capsomères, 12 aux pointes et les autres aux arêtes et aux faces. Le virus du polyome, responsable de certains cancers des rongeurs, contient 42 capsomères dont la disposition est représentée dans la figure 16-12.

Le virus de la mosaïque du tabac est constitué par des bâtons ou des cylindres d'environ 3 000 Å de long et 75 Å de rayon. Le poids moléculaire est d'environ 40×10^6 .

Le virus de la mosaïque du tabac ne contient qu'une seule variété de RNA, constituant cinq pour cent environ de la masse du virus et formant vraisemblablement une seule molécule d'acide nucléique de poids moléculaire voisin de 2×10^6 et contenant environ 6 000 nucléotides. Le restant de la particule du virus consiste en 2 150 unités identiques d'une protéine de poids moléculaire égal à 17 000, les molécules de protéine entourant complètement le noyau formé par la molécule de RNA. Comme le montre la figure 16-13 dans le virus de la mosaïque du tabac, le RNA est enroulé en une spirale de 40 Å de rayon. Les figures 16-14 et 16-15 montrent la disposition des protéines par rapport au noyau de RNA dans le virus de la mosaïque du tabac.

B. REPRODUCTION ET CYCLE BIOLOGIQUE

Si on enlève l'enveloppe de protéines, le noyau de RNA est capable, bien que faiblement, de provoquer l'infection du tabac, à condition que la structure primaire du RNA soit préservée. Le RNA remis en présence de la protéine virale, reconstitue *in vitro* le virus lui-même. La reproduction du virus au sein des cellules de la feuille de tabac dans laquelle on l'a introduit débute environ 20 à 30 heures après l'infection et elle est précédée par une synthèse de RNA viral libre.

Par conséquent, on a ici un exemple dans lequel une molécule difforme de RNA provoque sa propre reproduction, en même temps que celle de son partenaire protéique. On a séparé le RNA infectieux de divers virus, y compris celui de la poliomyélite.

Les virus parasites des bactéries portent le nom de bactériophages. Parmi eux figure une série de sept virus parasites d'*E. coli* parmi lesquels

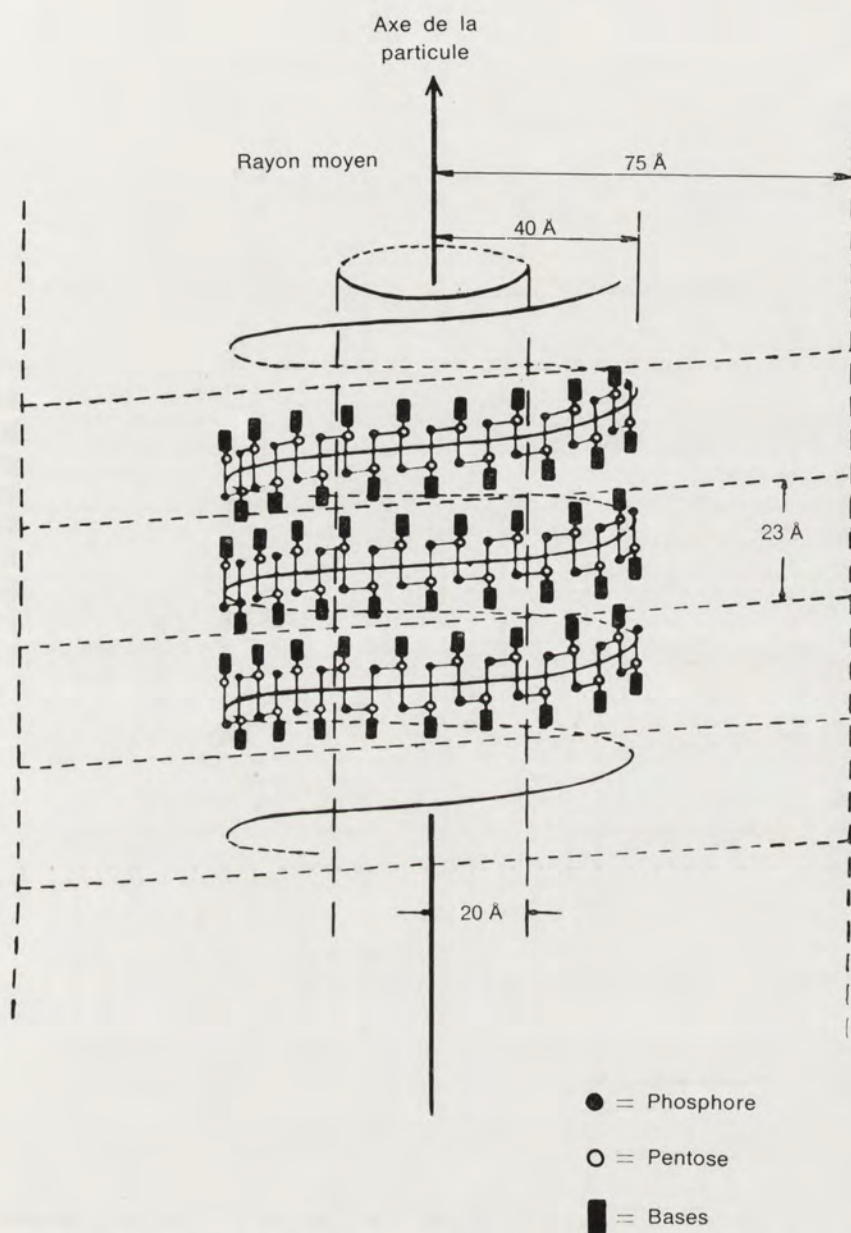


FIG. 16-13. Configuration de la chaîne simple du RNA du virus de la mosaïque du tabac (d'après Steiner).

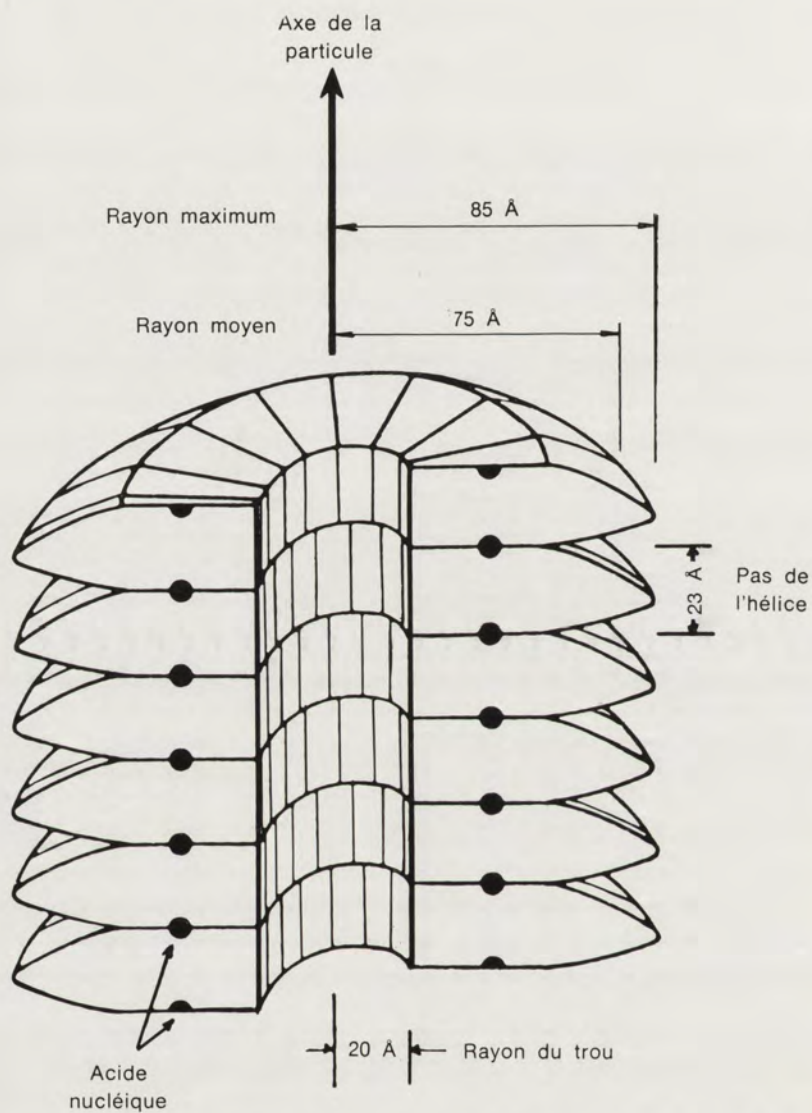


FIG. 16-14. Disposition en hélice des protéines formant le virus de la mosaïque du tabac (d'après Steiner).

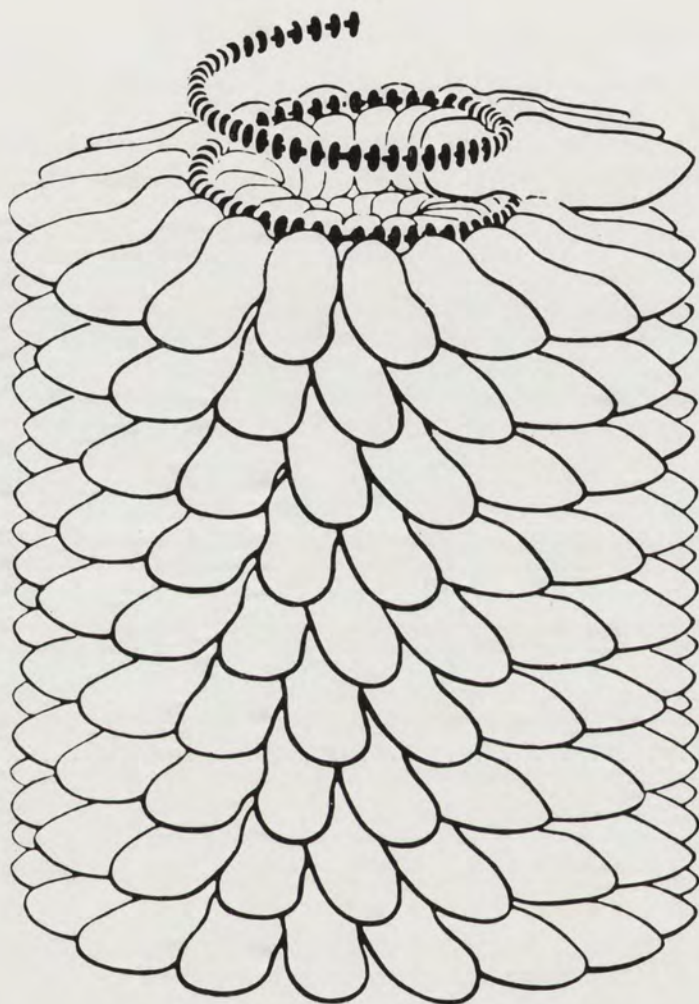


FIG. 16 15. Virus de la mosaïque du tabac. Une partie des protéines formant l'enveloppe du virus a été enlevée mettant en évidence la disposition de la chaîne de RNA (d'après Steiner).

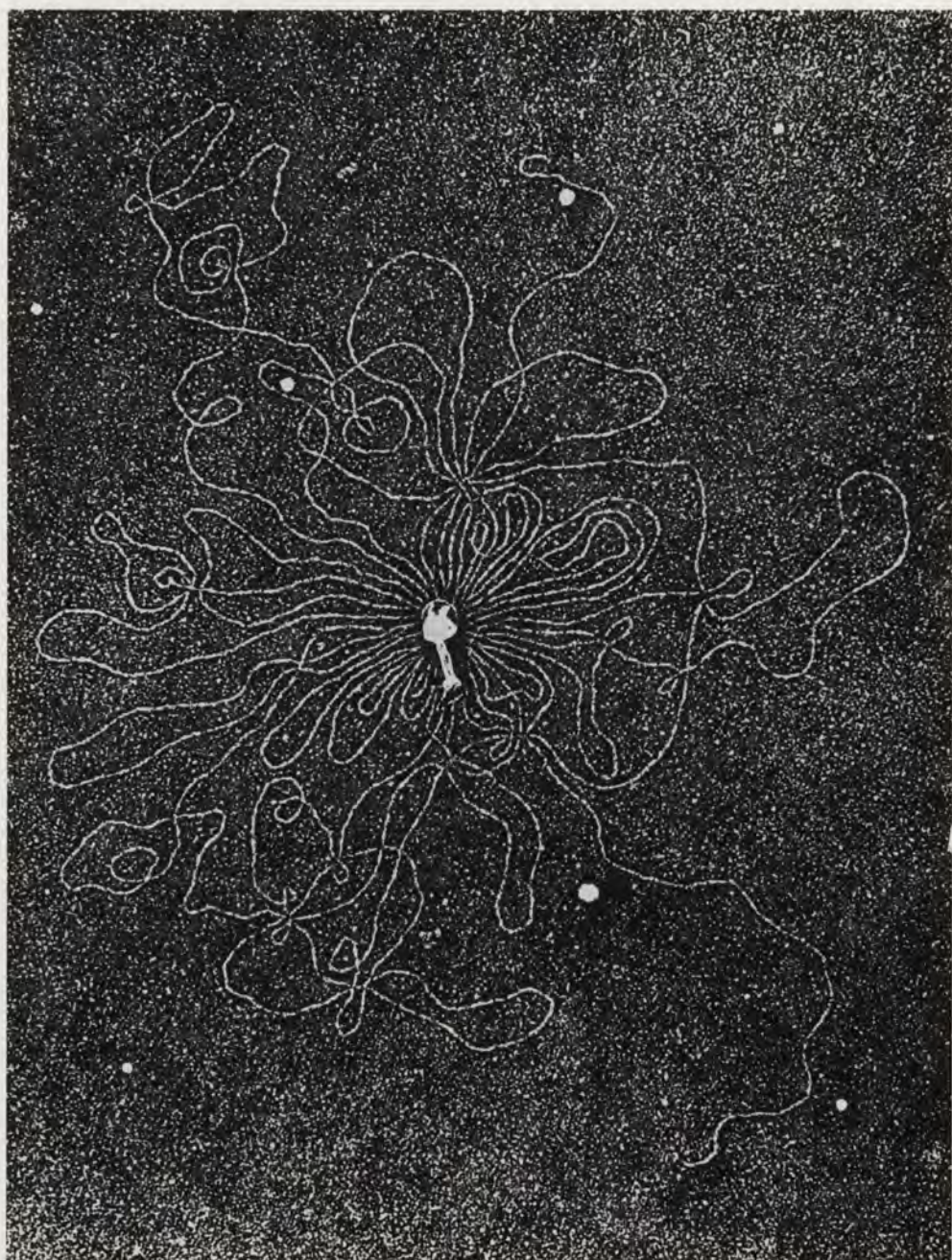


FIG. 16-16. Le DNA du bactériophage Tr, libéré de la tête du virus en milieu hypotonique. Agrandissement : environ 80 000 (d'après Kleinschmidt).

les formes T_2 , T_4 et T_6 (qu'on appelle les T-pairs) ont été surtout étudiées. Ils ont approximativement la forme de têtards qui seraient formés d'une tête hexagonale bipyramidale et d'une queue allongée. Si un bactériophage T_2 , par exemple, est placé en milieu hypotonique, sa tête gonfle et l'acide nucléique qu'elle contient, et qui est cette fois du DNA, se répand autour d'elle.

L'infection d'une bactérie d'*Escherichia coli* par le bactériophage T_2 débute par la fixation de la queue à la surface de la cellule bactérienne (Fig. 16-17). Une attaque enzymatique s'accomplit au niveau de la mem-

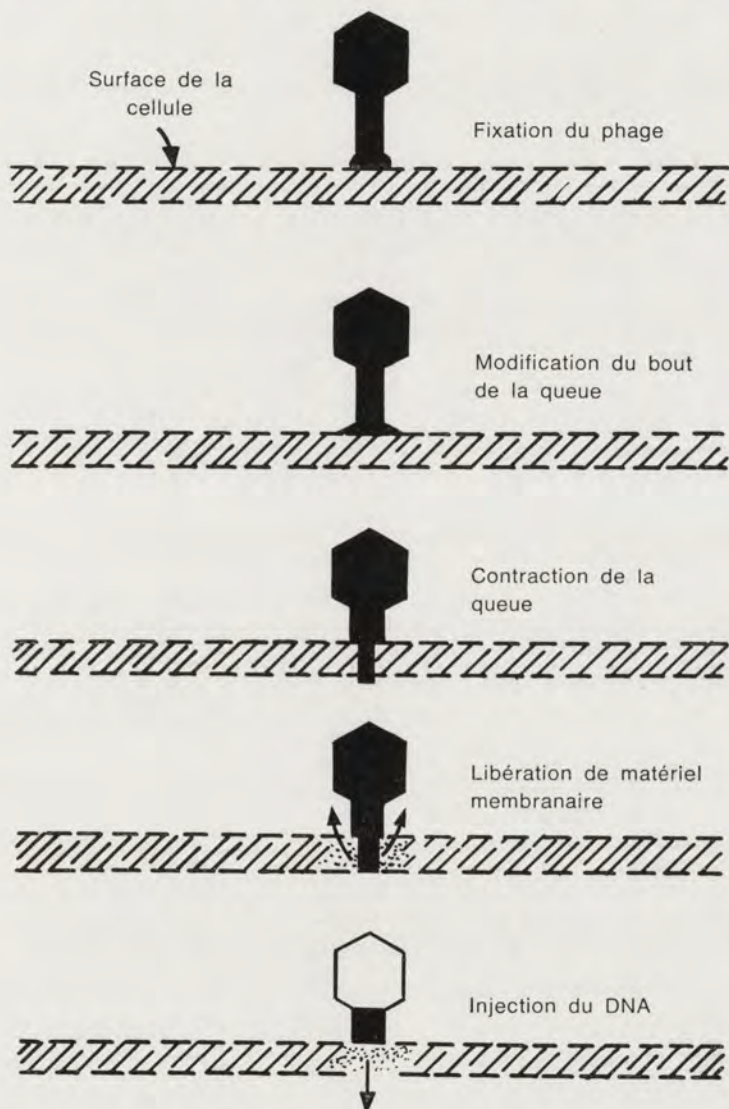
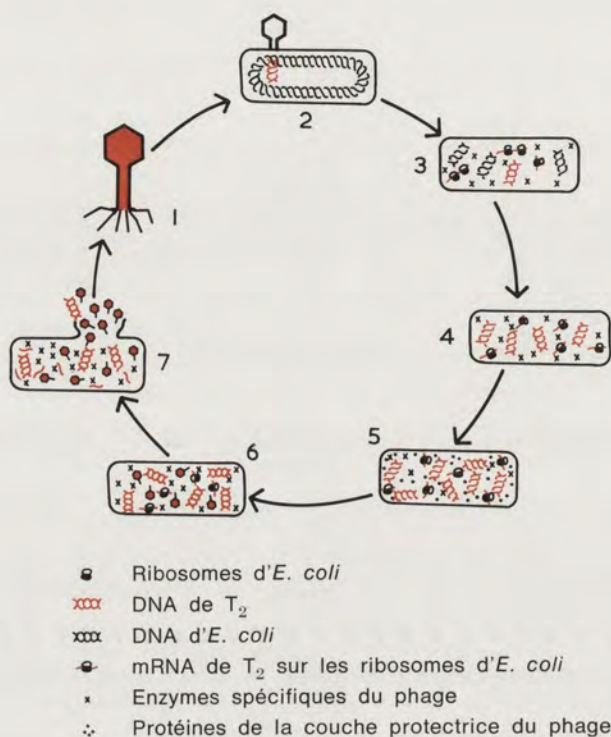


FIG. 16-17. Représentation schématique de l'injection du DNA du phage T_2 dans une bactérie (*E. coli*) (d'après Steiner).

FIG. 16-18. Cycle biologique du phage T_2 (d'après Watson).

1. Le virus d'un « poids moléculaire » voisin de $2.5 \cdot 10^8$ contient : une double hélice de DNA (P.M. $1.2 \cdot 10^8$) enfermée dans une enveloppe protectrice de nature protéique.
2. Fixation du virus sur *E. coli* et injection du DNA.
3. Synthèse de mRNA spécifiques du phage servant de modèles à la synthèse d'enzyme brisant les chromosomes de l'hôte.
4. Multiplication des chromosomes du phage.
5. Synthèse des protéines de l'enveloppe.
6. Formation de l'enveloppe autour des molécules de DNA du phage et début de la synthèse des molécules de lysozyme du phage.
7. Lyse d'*E. coli* sous l'action des molécules de lysozyme de 200 à 1 000 virus.

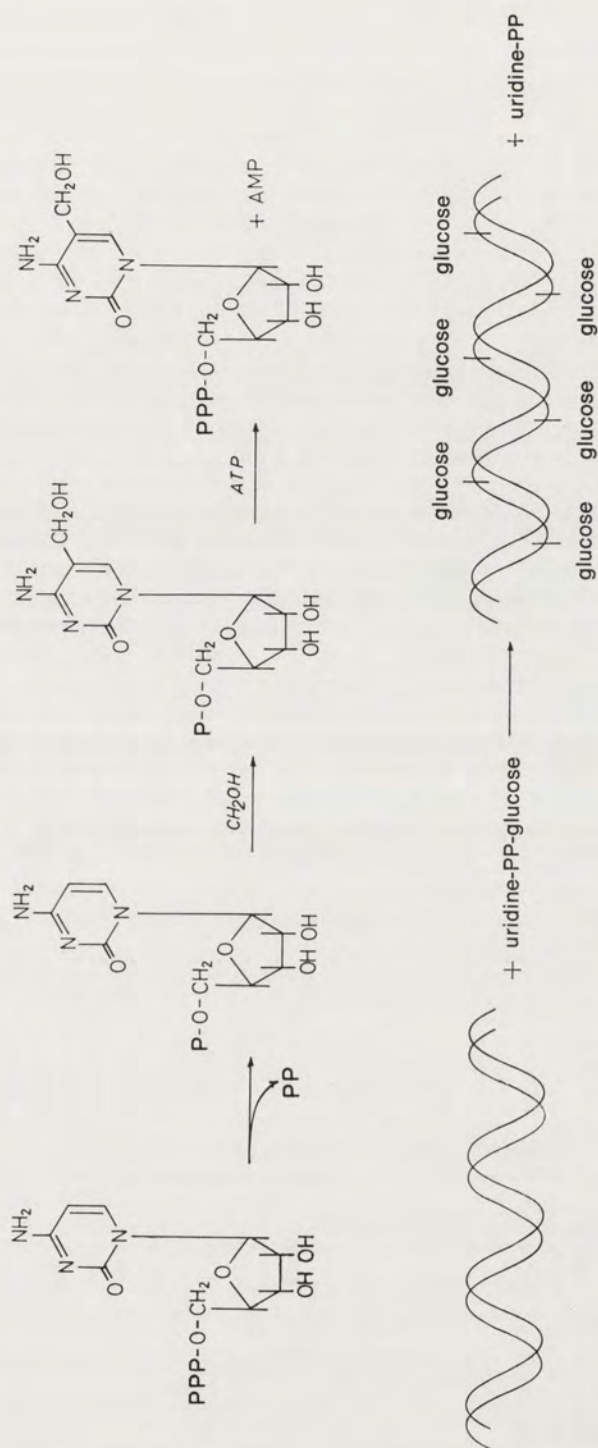


FIG. 16-19. *E. coli* parasité par le phage T₂. Mécanisme de la synthèse de DNA contenant de la 5-hydroxyméthylcytosine et son dérivé glucosé. Un premier enzyme hydrolyse le pyrophosphate de la cytosine ce qui explique l'absence de cytosine dans le DNA synthétisé. Le produit est alors hydroxyméthylé puis rephosphorylé et constitue un substrat pour la DNA polymérase. Le glucose est alors fixé sur la molécule de DNA (d'après Watson).

brane et à travers l'orifice formé, la contraction du bactériophage provoque l'injection de son DNA dans la bactérie. Rien ne s'observe pendant les dix minutes qui suivent (état végétatif, période d'éclipse). Aussitôt après l'introduction du DNA du bactériophage, la bactérie cesse de synthétiser ses propres DNA et RNA. Après environ six minutes, commence la synthèse de DNA de T_2 . Après environ huit minutes, commence une synthèse de protéines virales et après dix minutes le premier phage complet apparaît, en présence d'environ cinquante unités de DNA et de dix à vingt unités de protéine virale. La synthèse s'accélère alors et les matériaux qui l'alimentent sont constamment renouvelés. Après environ vingt et une minutes, les particules de phage se sont accumulées et la bactérie se rompt, libérant un nombre de phages pouvant aller jusqu'à 1 000 (Fig. 16-18).

Dans le cas du bactériophage T_2 , le métabolisme du DNA et du RNA de la cellule hôte est aboli et remplacé par la production du RNA viral dont la structure est commandée par le DNA viral. Ceci amène notamment la production d'un enzyme qui détruit les chromosomes d'*E. coli*, le DNA viral échappant à son action par suite de sa composition particulière. Les chaînes de DNA en double hélice du virus sont formées par la mise en jeu des mécanismes qui normalement produisent le DNA d'*E. coli*, en présence de la DNA polymérase de ce dernier. Le DNA du bactériophage, d'autre part, produit des mRNA correspondant à ses enzymes formateurs. Le DNA du bactériophage T_2 ne contient pas de cytosine, remplacée par la 5-OH méthylcytosine, laquelle s'accouple avec la guanine comme le fait la cytosine (Fig. 16-19).

Il existe des virus dont l'acide nucléique est formé par une seule chaîne de DNA et d'autres, comme le virus de la mosaïque du tabac, dont l'acide nucléique est le RNA. Dans la généralité des cellules, les RNA ont des facteurs de transcription mais ils ne sont pas l'objet de réplication. Ils sont copiés sur des DNA. Dans le cas des virus à RNA, la réplication du RNA peut se faire par suite de la présence de RNA synthétase. Mais pour la synthèse de cette dernière le RNA viral doit agir comme messager au sein de sa cellule-hôte, utilisant les sRNA et les ribosomes de cette dernière.

A CONSULTER

- INGRAM, V. M., The hemoglobins in genetics and evolution. Columbia Univ. Press, New York, 1963.
- STEINER, R. F., The chemical foundations of molecular biology. Van Nostrand, Princeton, 1965.
- STENT, G. S., Molecular biology of bacterial viruses. W. F. Freeman, San Francisco, 1963.
- WATSON, J. D., Molecular biology of the gene. Benjamin, New York, 1965.
- Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 4 (1962), 6 (1964). Academic Press, New York.
- Comprehensive biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stoltz). Vol. 7, 8. Academic Press, New York, 1963.
- Introduction to molecular biology (Publié sous la direction de G. H. Haggis). Longmans, Green and Co., London, 1964.
- Metabolic pathways, 2nd edit. of Chemical pathways of metabolism (Publié sous la direction de D. M. Greenberg). Vol. 2. Academic Press, New York, 1961.
- Studies of macromolecular biosynthesis (Publié sous la direction de R. B. Roberts). Garamond Pridmark Press, Baltimore, 1964.
- The interpretation of ultrastructure (Publié sous la direction de R. J. C. Harris). Academic Press, New York, 1962.

CHAPITRE 17

Structure et propriétés de quelques protéines importantes

I. Le collagène	503
II. L'hémoglobine des hématies des vertébrés	506
III. La myoglobine	510
IV. La myosine, l'actine et la contraction musculaire	510
A. Constituants principaux de la fibre musculaire	510
B. Ultrastructure du sarcomère	511
C. La contraction musculaire et le glissement des filaments	515
D. L'activation du système contractile	519
E. Couplage énergie chimique - travail mécanique	519
F. Couplage potentiel d'action - contraction	519

Au cours du développement d'un organisme pluricellulaire, la différenciation imprime à chaque catégorie de cellules ses structures et ses fonctions.

Les cellules d'un organisme possèdent le même génotype, et elles sont très semblables sous les rapports des mécanismes de la fourniture d'énergie et des systèmes du métabolisme intermédiaire.

C'est au niveau des protéines particulières synthétisées sous l'influence des molécules de mRNA venant du noyau, que la différenciation biochimique peut être définie pour chaque type cellulaire. Si nous prenons le cas d'un organisme de mammifère, l'organisme humain, ou celui



du rat par exemple, nous voyons que les cellules d'origine ectodermique peuvent être différenciées sous la forme des cellules épidermiques, des glandes cutanées, des cellules de l'adénohypophyse, des neurones, des neurones modifiés tels que la neurohypophyse et la médullaire surrénale, etc.

Les cellules endodermiques peuvent se différencier en cellules des glandes salivaires, en cellules muqueuses du tube digestif, en cellules du pancréas exocrine, en cellules du parenchyme hépatique, de la para-

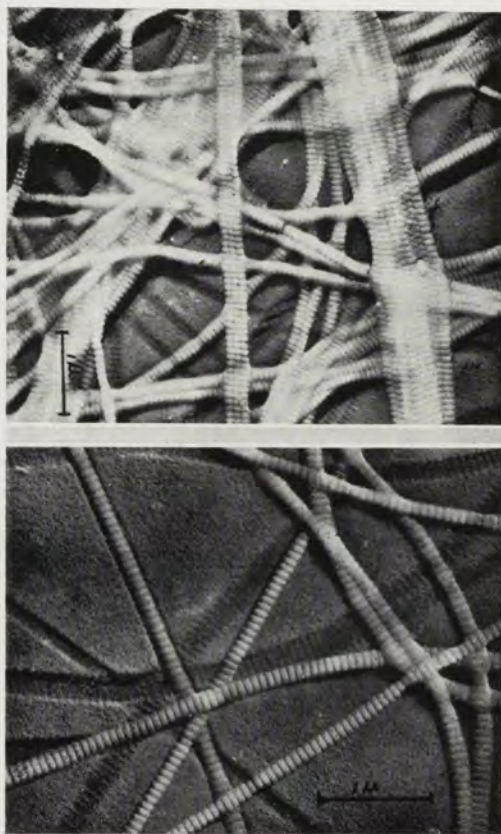


FIG. 17-1. Photographie du collagène natif montrant la striation caractéristique (d'après Gross et F. O. Schmitt).

thyroïde, des îlots de Langerhans du pancréas, de la thyroïde ou de l'épithélium pulmonaire. Quant au mésoderme, c'est de lui que dérivent les différenciations caractéristiques des cellules musculaires, des cellules conjonctives, de celles du cortex surrénal, des gonades et des cellules du tractus urinaire, aussi bien que les cellules sanguines, et notamment les hématies, les leucocytes et les immunoblastes. Dans chaque différenciation, ce sont les synthèses protéiques, conduisant à la formation de

protéines particulières (protéines de structures, enzymes, hormones, etc.), qui sont responsables de la forme de différenciation.

Chaque catégorie de cellules différenciées doit donc posséder un mécanisme assurant la transcription en mRNA de certaines régions spécifiques de ses DNA. C'est là un phénomène dont l'étude est bien située dans le domaine de la biologie moléculaire, laquelle porte aussi son enquête sur les relations entre la structure moléculaire et l'activité biologique des protéines caractéristiques des diverses différenciations.

I. LE COLLAGÈNE

Le collagène constitue avec l'élastine la portion fibrillaire du tissu collagène, lequel est répandu dans l'ensemble du règne animal, depuis les éponges (spongine) jusqu'aux vertébrés.

Le microscope électronique révèle la striation caractéristique des fibres collagènes (Fig. 17-1), dont les stries sont espacées de 700 Å, cette propriété n'est nullement, comme on l'avait cru autrefois, l'apanage

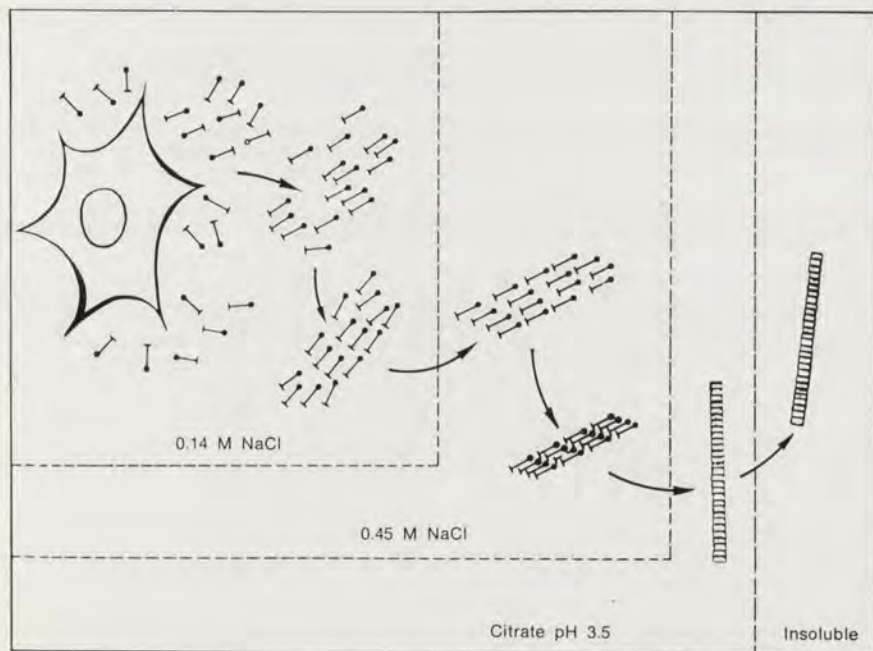


FIG. 17-2. Schéma montrant la succession des étapes dans la formation des fibres de collagène. Les cellules conjonctives émettent les molécules de tropocollagène en bâtonnets, lesquels s'unissent en s'ordonnant progressivement jusqu'à former les fibres à striation caractéristique. La figure montre aussi une systématisation hypothétique des fractions qu'on peut extraire au moyen de différents solvants : par NaCl, 0,14 M, le procollagène récemment formé ; par les solutions hypertoniques le même matériel plus du collagène dans un état plus avancé, par un tampon de citrate toutes les fractions énumérées ci-dessus plus certaines fibres de collagène. Les fibres plus anciennes et présentant un degré plus marqué de liaisons latérales sont insolubles (d'après Gross, Lapière et Tanzer).

des macromolécules de la protéine. Elle provient de leurs relations réciproques. Comme les autres protéines fibreuses, le collagène présente un point critique correspondant, lors de l'élévation de température, à une contraction soudaine.

Chez les collagènes de mammifères, cette température est voisine de 60° et la fibre se raccourcit d'un quart à un tiers de sa longueur.

Insolubles dans l'eau, les fibres collagènes sont dissoutes par l'acide acétique dilué, à la température du laboratoire. Si on neutralise la solution, les fibres se régénèrent et présentent de nouveau l'espacement de 700 Å entre les stries, mais on peut par l'action de divers agents, modifier la structure des fibres régénérées (Fig. 17-2).

Si on soumet à l'ultracentrifugation une solution de collagène dans l'acide acétique, on précipite les molécules en solution (procollagène, tropocollagène). Les études sur ce sujet ont surtout porté sur le collagène de la vessie de carpe (ichthyocolle). Ce tropocollagène a un poids moléculaire voisin de 350 000. Les molécules sont en forme de bâtonnets d'environ 3 000 Å de long et 14 Å de diamètre.

La composition du collagène en acides aminés est très particulière comme le montre le tableau 17-1.

Tableau 17-1
LES ACIDES AMINÉS DE QUELQUES PROTÉINES IMPORTANTES

Acides aminés	Moles pour 100 000 g			Résidus par mole
	Collagène	Myosine (lapin)	Fibrinogène (homme)	Sérum- albumine (bœuf)
Alanine	107	73	42	48
Glycocolle	363	25	75	17
Valine	29	22	35	35
Leucine	—	119	54	65
Isoleucine	43	—	37	14
Proline	131	17	50	29
Phénylalanine	15	26	28	24
Tyrosine	5	19	30	19
Tryptophane	0	4	16	2
Sérine	32	41	67	28
Thréonine	19	43	52	29
Cystine/2	0	12	19	28
Cystéine	0	—	3	1
Méthionine	5	23	17	4
Arginine	49	42	45	23
Histidine	5	15	17	18
Lysine	31	81	63	60
Acide aspartique	47	67	99	65
Acide glutamique	77	150	99	78

On voit que le glycocolle, la proline et l'oxyproline forment un quart de la protéine. Ces proportions varient d'un collagène à un autre, mais la somme des trois acides aminés est toujours élevée. La proline et l'oxyproline sont les seuls acides aminés possédant un groupe iminé

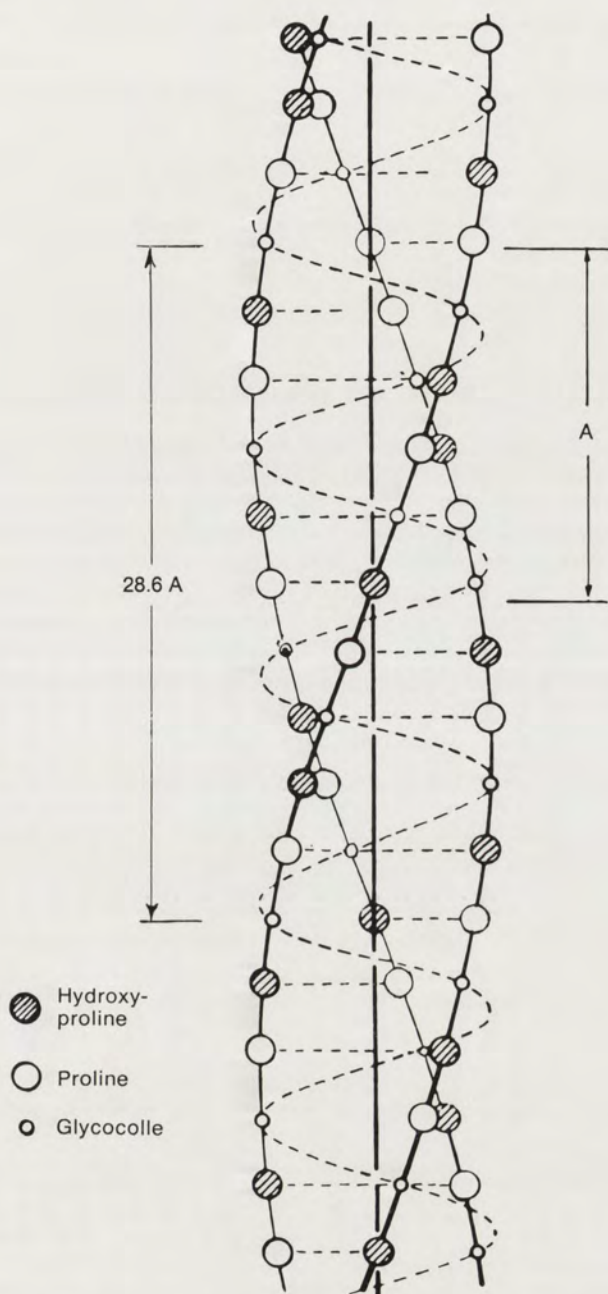


FIG. 17-3. Structure du tropocollagène (d'après F. Schmitt).

attaché au carbone α . Quand il entre en combinaison dans une liaison peptidique, le groupement iminé perd son unique hydrogène et il ne lui est donc plus possible de contracter la liaison hydrogène qui assure la stabilisation de la structure en hélice α . On admet que le collagène est formé de trois filaments peptidiques, que chacun est enroulé en hélice gauche et les trois enroulés en superhélice droite (Fig. 17-3).

Les molécules de tropocollagènes sont unies en protofibrilles qui s'associent elles-mêmes en se doublant sur les trois quarts environ de la longueur, ce qui donne au microscope électronique l'illusion de la périodicité de 700 Å.

II. L'HÉMOGLOBINE DES HÉMATIES DE VERTÉBRÉS

Dans le sang des vertébrés circulent des globules rouges encore appelés érythrocytes ou hématies. Ces cellules sont nucléées chez la plupart des vertébrés (amphibiens, oiseaux, etc.) mais elles sont anucléées chez les mammifères. Chez les animaux, les érythrocytes dérivent de la moelle osseuse par un processus de différenciation qui comporte une série de phases : augmentation de la concentration du cytoplasme en RNA ; perte du nucléole et légère diminution de la teneur en RNA du cytoplasme ; nouvelle diminution du RNA et apparition d'une colorabilité par les colorants acides résultant de la synthèse d'une protéine basique, la globine, et formation de molécules d'hème et d'hémoglobine ; disparition des mitochondries ; disparition du noyau. Finalement l'érythrocyte de vertébré devient un sac d'hémoglobine n'ayant gardé que les systèmes enzymatiques fixés aux membranes cellulaires : ceux de la glycolyse et du cycle des pentoses.

L'hémoglobine d'un vertébré adulte, l'homme par exemple, contient quatre chaînes polypeptidiques, deux chaînes α et deux chaînes β . La séquence des acides aminés (structure primaire) de ces deux chaînes est représentée dans la figure 17-4, dans le cas de l'hémoglobine humaine.

Une chaîne α contient 141 acides aminés tandis qu'une chaîne β en contient 146.

Les structures secondaire, tertiaire et quaternaire de l'hémoglobine ont été déterminées par la méthode d'étude des cristaux au moyen des rayons X. On peut par cette méthode reconstituer les inflexions des quatre chaînes polypeptidiques (Fig. 17-5).

Quand l'hémoglobine se combine avec l'oxygène pour former l'oxyhémoglobine, les chaînes β s'écartent du centre de la molécule de 7 Å et accroissent ainsi la distance séparant les deux groupements hémiques au niveau desquels peuvent se fixer les molécules d'oxygène.

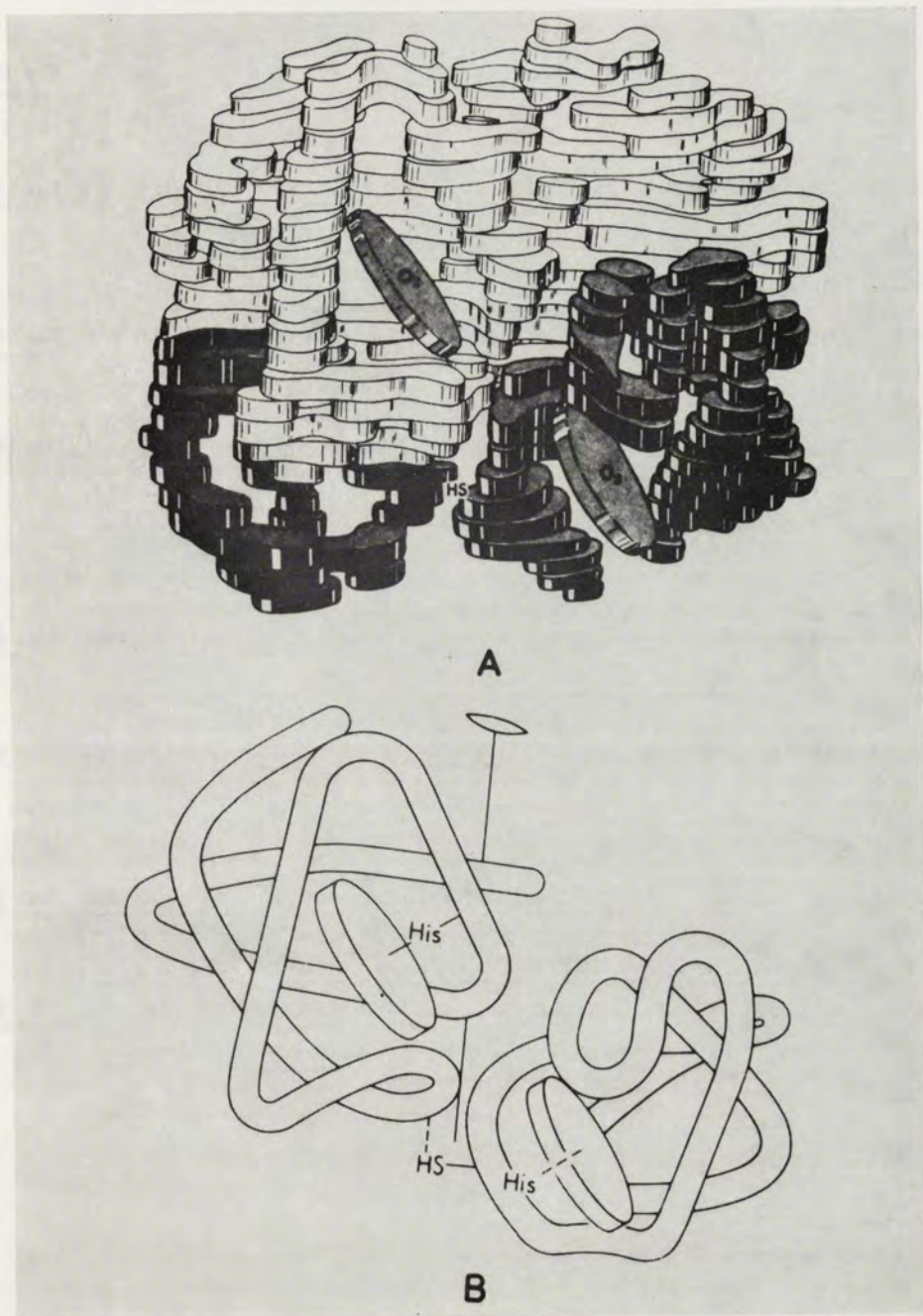
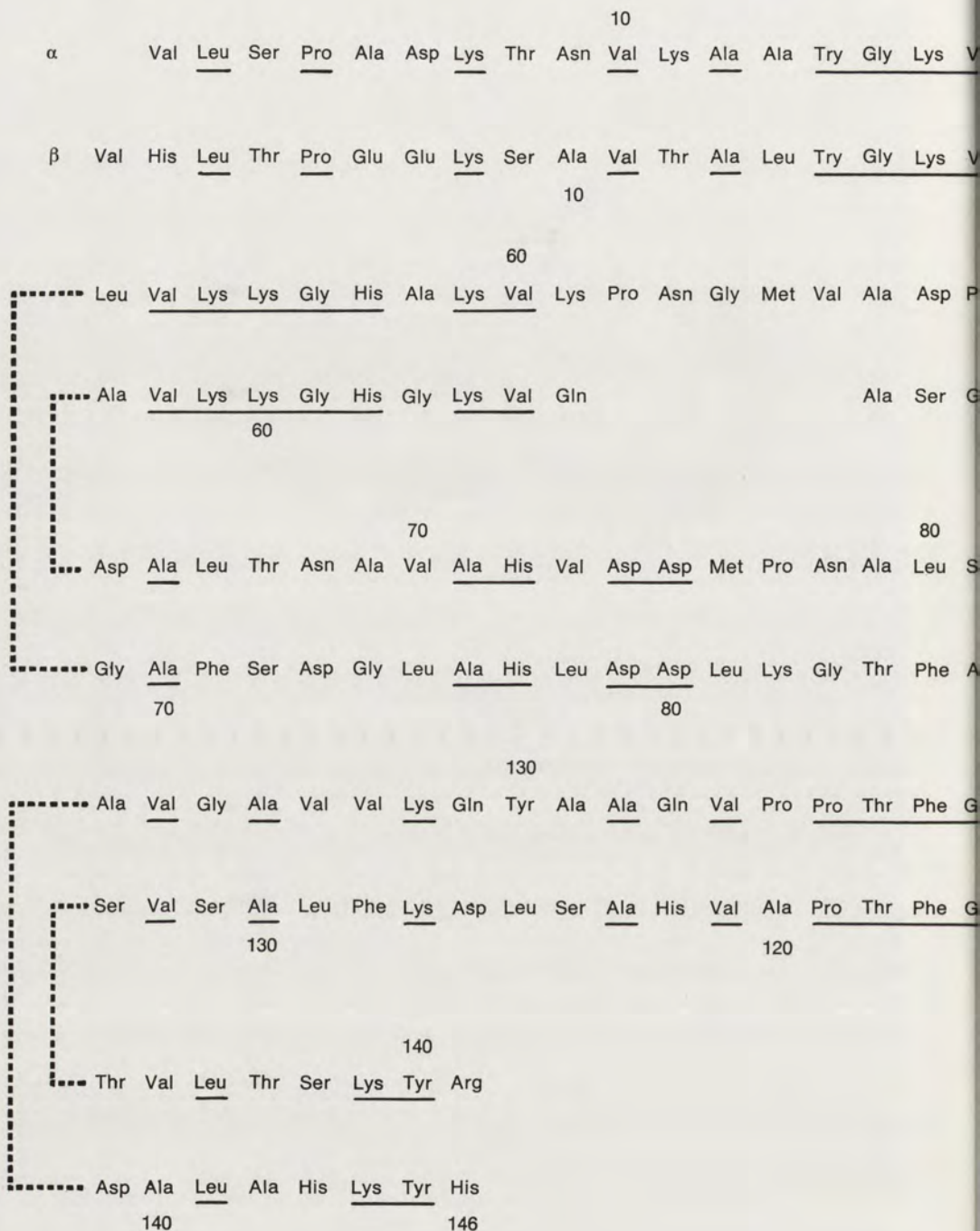


FIG. 17-5. Ultrastructure de l'hémoglobine.

A. Les groupes hémiques sont indiqués par les disques gris. Les deux chaînes polypeptidiques représentées en blanc sont identiques ; il en est de même des deux chaînes représentées en noir.

B. Configuration des chaînes faisant face au lecteur dans le modèle A. Le schéma de gauche représente la chaîne figurée en blanc dans le dessin A (d'après Perutz).



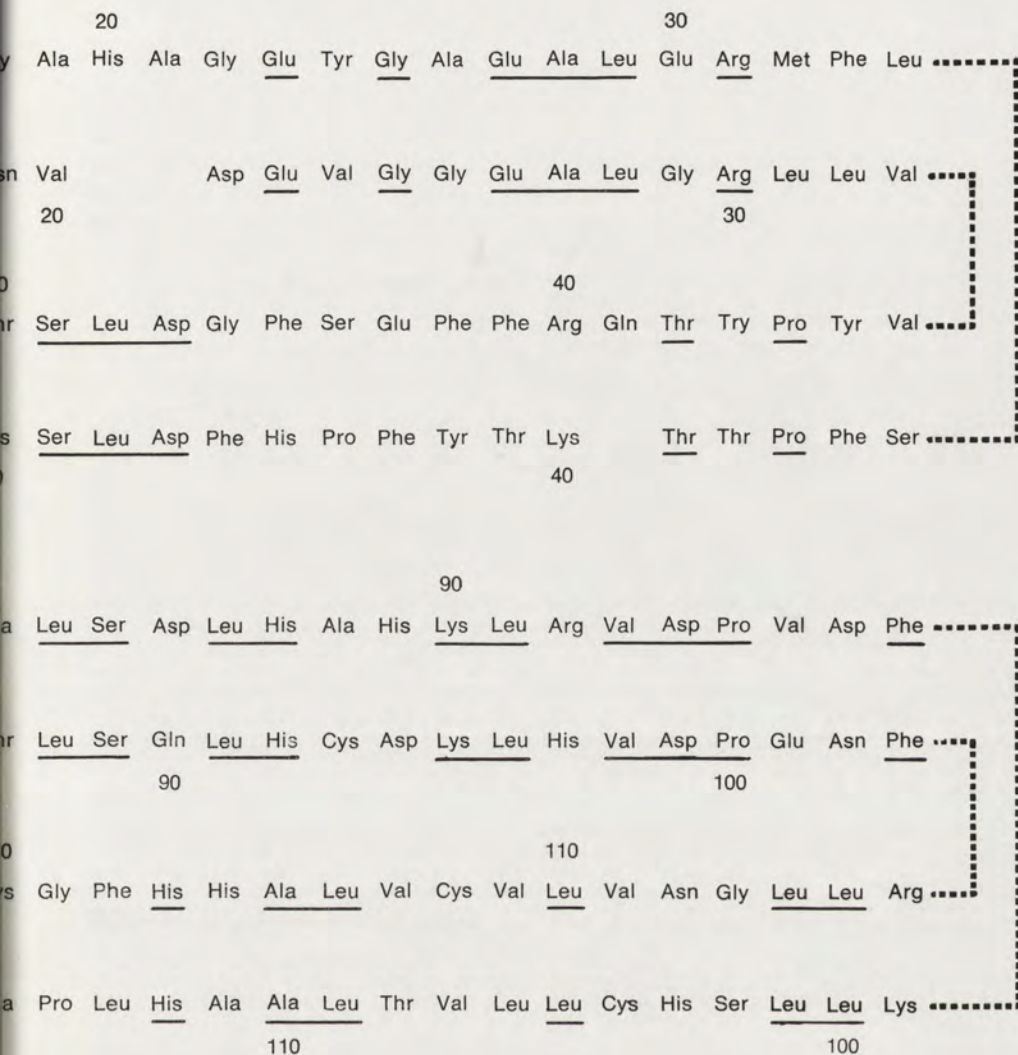


FIG. 17-4. Structure primaire des chaînes α et β de l'hémoglobine A de l'homme (d'après Ingram).

III. LA MYOGLOBINE

Présente dans les muscles des vertébrés, la myoglobine, qui est une petite molécule de poids moléculaire voisin de 18 000, ne contient qu'un hème et une chaîne polypeptidique. Elle se combine réversiblement avec l'oxygène et elle forme l'oxymyoglobine, réservoir intracellulaire d'oxygène.

La figure 17-6 montre la structure de la myoglobine. Elle est, malgré les différences entre les structures primaires des deux protéines, remarquablement similaire à celle d'une chaîne de l'hémoglobine.

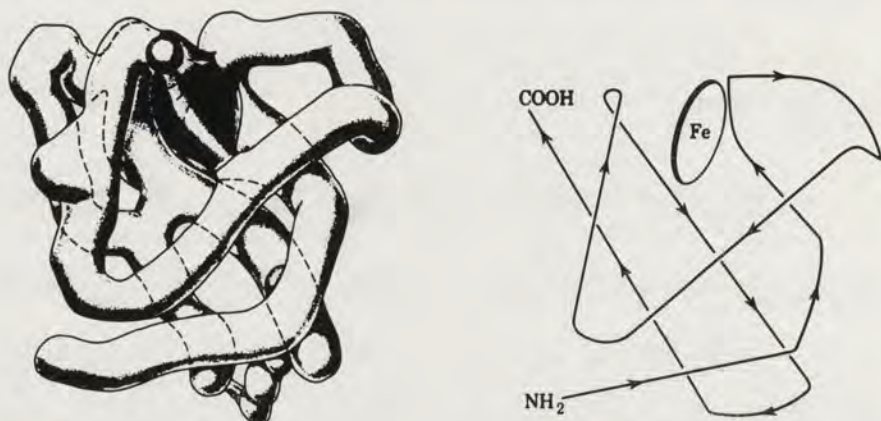


FIG. 17-6. Modèle de la myoglobine. Structure générale de la chaîne polypeptidique. L'hème est représenté par la surface foncée (d'après Kendrew).

IV. LA MYOSINE, L'ACTINE ET LA CONTRACTION MUSCULAIRE

A. CONSTITUANTS PRINCIPAUX DE LA FIBRE MUSCULAIRE

La longueur des fibres musculaires striées des vertébrés peut atteindre plusieurs centimètres. Chaque fibre, épaisse de 20 à 100 μ , est un plasmode plurinucléé entouré d'une membrane.

Son cytoplasme, le sarcoplasme, contient des myofibrilles, allongées sur toute la longueur de la fibre, et dont la section a un diamètre de 1 à 2 μ . La spécialisation biochimique de la fibre musculaire consiste notamment dans la présence de certaines protéines.

Quand on extrait les fibres musculaires par de l'eau, on en retire une série d'albumines. Cette fraction, appelée myogène, contient les enzymes du système glycolytique et est un mélange très complexe. Les globulines ne peuvent être extraites qu'au moyen de solutions salines. Parmi elles se trouvent la myosine, l'actine et la tropomyosine. Le poids moléculaire de la myosine est égal à 880 000. Les macromolécules sont de forme allongée, longues de 2 200-2 400 Å et de diamètre égal à 22-23 Å.

La G-actine ou actine globulaire (P.M. = 70 000) se polymérise en fibres de F-actine. Une troisième globuline, la tropomyosine, est une macromolécule très allongée dont le poids moléculaire est égal à 53 000 et dont l'axe longitudinal correspond à 14.5 Å.

La myoglobine, dont il a été question plus haut, est aussi un constituant protéique de la fibre musculaire à laquelle elle donne la couleur rouge.

B. ULTRASTRUCTURE DU SARCOMÈRE

Les myofibrilles, examinées au microscope, présentent une alternance régulière de bandes transversales sombres et claires, résultant d'illusions d'optique. Les bandes sombres sont biréfringentes en lumière polarisée et on les appelle bandes ou disques anisotropes (A) pour les distinguer des bandes ou disques clairs qui sont isotropes (I). Les anciens histologistes ont décrit dans les disques A divers détails de structure (Fig. 17-7) :

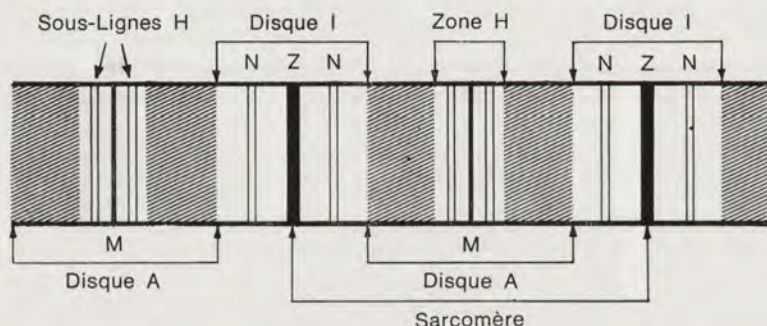


FIG. 17-7. Représentation schématique d'une myofibrille (d'après Perry).

la membrane M (Mittelscheibe), ligne transversale nette située au milieu du disque A, et aussi au milieu d'une bande transversale plus claire, la bande H (strie de Hensen) que limitent les sous-lignes H. Chaque disque I est séparé en deux par une membrane très nette, le disque Z (Zwischenscheibe) et chaque moitié du disque I est elle-même partagée en deux par le disque N (Nebenscheibe). L'usage du microscope électronique, de la méthode de diffraction des rayons X aux grands angles et aux petits angles, de la méthode d'extraction sélective, etc. ont montré que l'unité fondamentale de la fibrille, le sarcomère est limité à ses deux extrémités par des disques Z et est donc formé par un disque A encadré par deux moitiés de disque I.

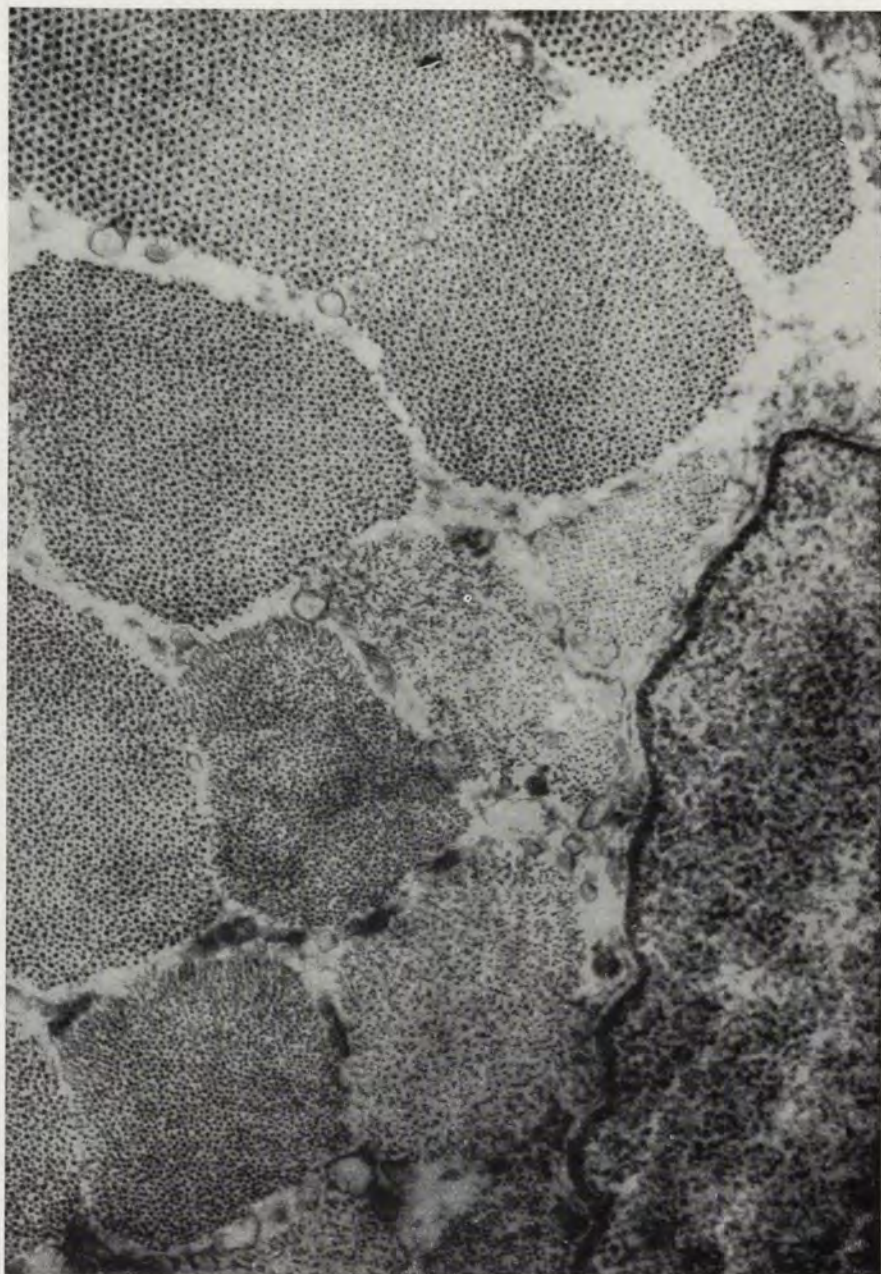


FIG. 17-8. Section transversale du muscle psoas de lapin, montrant la disposition en hexagone des filaments d'actine et de myosine. $\times 58\,000$ (d'après H. E. Huxley et Hanson).

Les filaments de myosine règnent uniquement sur la longueur de la bande A, tandis que les filaments d'actine règnent non seulement sur toute la longueur des disques I mais pénètrent au sein des disques A jusqu'à la bande H, manquant par conséquent dans cette dernière. Les filaments d'actine et de myosine sont disposés régulièrement selon un double réseau hexagonal qui est bien visible sur la figure 17-8. Il s'agit de l'image obtenue en examinant au microscope électronique une section transversale de muscle strié. L'épaisseur des filaments de myosine est voisine de 100 Å alors que celle des filaments d'actine est de 50 Å. D'autre part la distance séparant deux filaments de myosine est de 450 Å.

La figure 17-9 schématise la situation. Elle montre en outre que, selon le niveau de la section transversale, les filaments d'actine, de myosine ou l'ensemble des deux sont visibles. Cette conclusion est illustrée

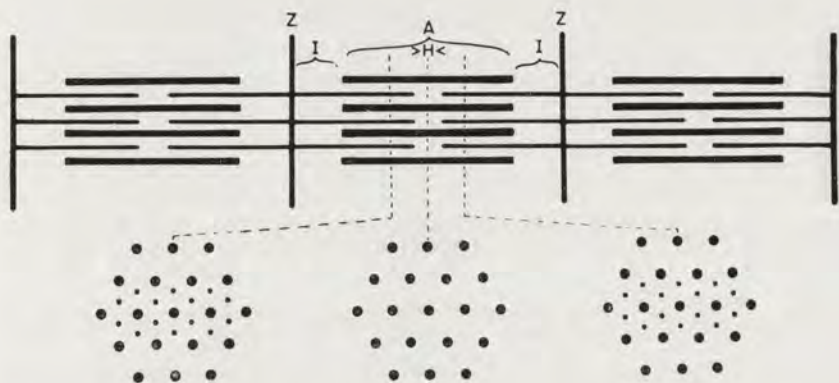


FIG. 17-9. Schéma illustrant l'aspect d'une coupe transversale réalisée à différents niveaux du sarcomère (d'après H. E. Huxley, *in* Nachmansohn).

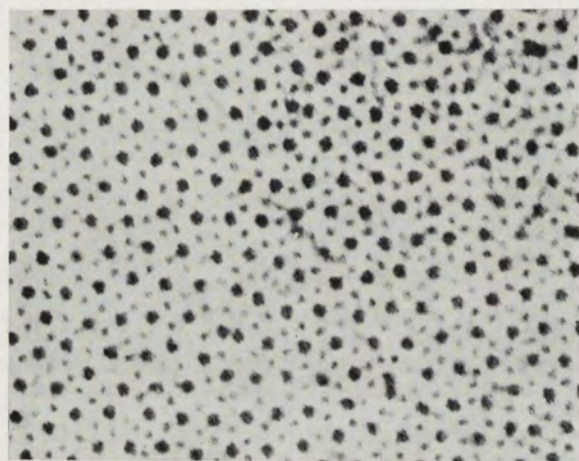
par le fait qu'en sectionnant un muscle strié à différents niveaux du sarcomère on obtient effectivement la disposition prévue (Fig. 17-10).

L'organisation des filaments d'actine et de myosine selon un double réseau hexagonal permet également de prévoir qu'une section longitudinale orientée dans le sens indiqué par les lignes pointillées du schéma (Fig. 17-11) devrait montrer la succession : un filament de myosine, deux filaments d'actine, un filament de myosine, etc.

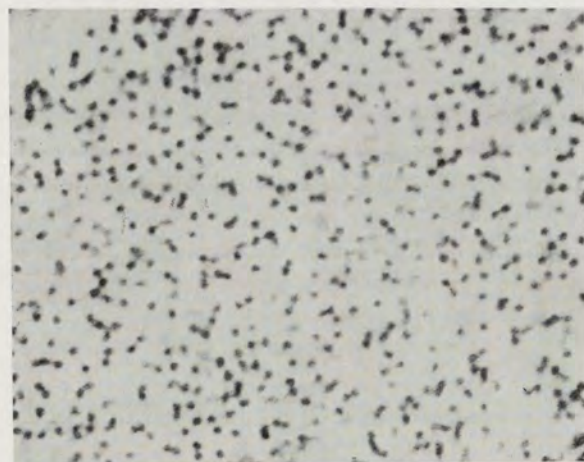
Une telle organisation résulte évidemment de la géométrie particulière qu'acquière deux réseaux symétriques hexagonaux imbriqués l'un dans l'autre. La démonstration nécessite la réalisation de coupes ultra-fines dont l'épaisseur maximum doit correspondre à celle d'un filament de myosine, soit 150 Å. La figure 17-12 illustre le résultat obtenu :



A



B



C

FIG. 17-10. Sections transversales réalisées à différents niveaux d'un sarcomère : en A, dans la bande H, les filaments de myosine sont seuls visibles ; en B, la section passe dans la région la plus dense de la bande A, c'est-à-dire de part et d'autre de la zone H, et montre les filaments d'actine et de myosine disposés selon un réseau hexagonal ; en C, section dans la bande I montrant les filaments d'actine. $\times 66\,000$ (d'après H. E. Huxley) (Cfr Fig. 17-9).

En outre, elle met en évidence de façon très claire une autre caractéristique de l'ultrastructure des protéines contractiles : c'est la présence de ponts latéraux qui mettent en relation les filaments d'actine et de myosine. Ces ponts sont distants les uns des autres d'environ 400 Å. Comme chaque filament de myosine est entouré d'un réseau hexagonal de six filaments d'actine, il y a donc six ponts pour une distance de 400 Å le long d'un filament de myosine, ce qui représente un intervalle de 60 à 70 Å entre chaque pont.

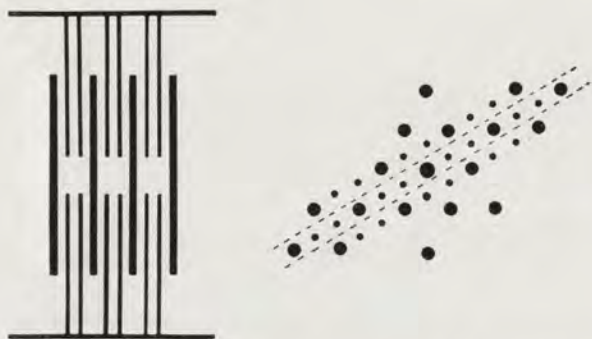


FIG. 17-11. Diagramme illustrant l'aspect que doit prendre une coupe longitudinale fine réalisée dans un système de filaments disposés régulièrement selon un double réseau hexagonal. L'espace compris entre les lignes pointillées représente le profil de la section longitudinale (d'après H. E. Huxley, *in* Nachmansohn).

Les résultats des études par la méthode de la diffraction des rayons X sont le mieux interprétés en postulant l'existence d'un réseau hexagonal, ce qui correspond à la conclusion dérivée de l'analyse du sarcomère en microscopie électronique.

Que les filaments les plus épais que nous avons décrits plus haut correspondent à la myosine est bien démontré par le fait qu'il est possible d'extraire spécifiquement la myosine dans un milieu de force ionique élevée contenant de l'ATP ou du pyrophosphate. Dans ces conditions, les images obtenues au microscope électronique montrent la disparition presque totale des filaments épais. L'activité ATPasique, caractéristique de la myosine, disparaît parallèlement.

C. LA CONTRACTION MUSCULAIRE ET LE GLISSEMENT DES FILAMENTS

Pour expliquer la contraction musculaire, deux théories sont proposées. Certains auteurs postulent un changement de configuration des protéines du muscle avec pour conséquence un raccourcissement. Selon cette vue les protéines musculaires, disposées dans le sens longitudinal de la fibre, se comporteraient comme des ressorts à boudin dont le degré d'extension serait contrôlé par l'activité de la cellule. L'autre théorie, plus généralement acceptée, a pour origine les observations effectuées

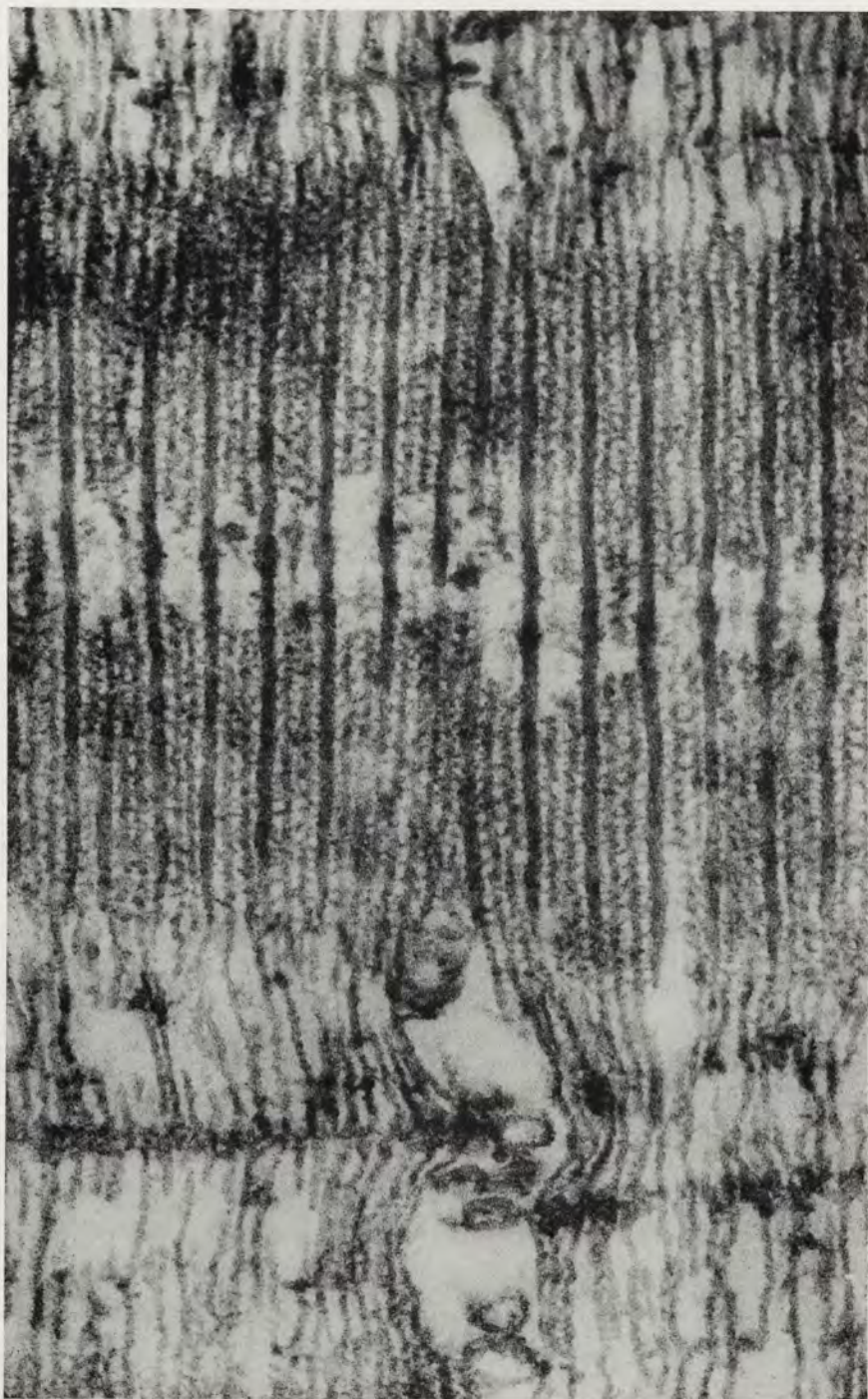


FIG. 17-12. Section longitudinale ultrafine ($\approx 150 \text{ \AA}$) réalisée dans un muscle strié et montrant la disposition des filaments d'actine et de myosine. Notez l'absence de filaments d'actine dans la zone H et de filaments de myosine dans la bande I du sarcomère. Cette photographie met également en évidence la présence de ponts latéraux réunissant les filaments d'actine et de myosine. $\times 120\,000$ (d'après H. E. Huxley, *in* Nachmansohn).

en microscopie, tant photonique qu'électronique. Il s'agit de la théorie dite du glissement des filaments dans laquelle il est postulé que le raccourcissement du muscle correspond à un déplacement des filaments d'actine le long de la myosine avec pour conséquence un rapprochement des disques Z limitant les sarcomères (Fig. 17-13).

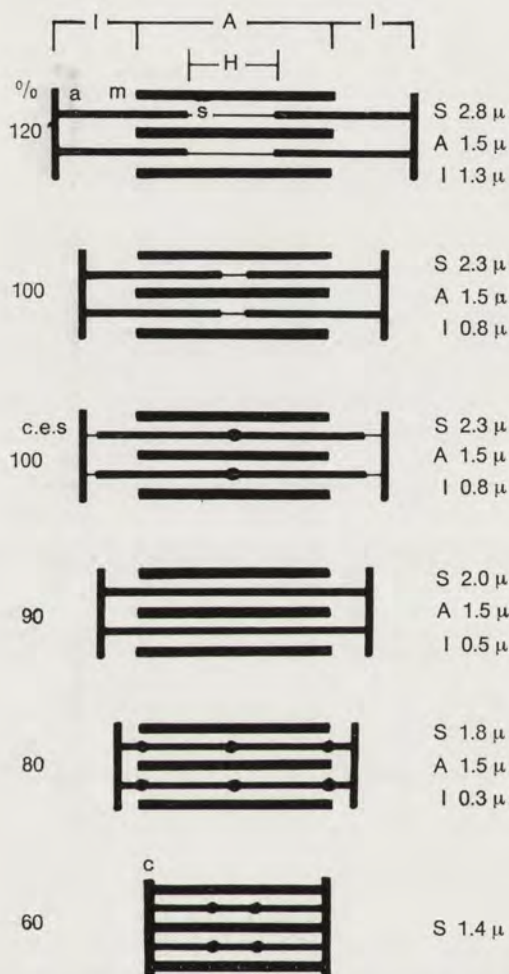


FIG. 17-13. Diagramme représentant la disposition des filaments d'un sarcomère de myofibrille. La longueur totale en pour cent de la longueur de repos est indiquée à gauche ; les longueurs du sarcomère (S), du disque anisotrope (A) et du disque isotrope (I) à droite. Signification des symboles : S, filaments ; m, myosine ; a, actine ; c.e.s., composant élastique en série ; C, bande de contraction (d'après Hanson et Huxley).

Selon cette conception, la contraction d'un sarcomère doit s'accompagner d'une diminution de la largeur de la bande I et de la zone H, alors que la distance Z-H doit rester constante. C'est ce que confirme l'étude au microscope à contraste de phase d'un muscle qui se contracte.

On admet alors que la formation de liaisons entre des sites actifs de l'actine et des sites complémentaires de la myosine est à l'origine des ponts observés sur les micrographies électroniques et permet d'expliquer le glissement des filaments.

Le passage d'un pont myosinique d'un site actif de l'actine au site immédiatement adjacent explique un raccourcissement de 1 %, il faut donc postuler le déplacement le long de plusieurs sites. Il est possible d'établir d'autres relations entre le modèle proposé et les faits recueillis par les physiologistes.

Le bilan énergétique du travail musculaire permet de conclure qu'un ATP est nécessaire pour le cycle de formation de ponts aboutissant à un déplacement de 130 Å. Dans ces conditions, on a calculé que le travail maximum exercé est voisin de 3 à 4 kg cm⁻².

La vitesse de raccourcissement d'un muscle est telle qu'il faut postuler que 30 à 100 ponts devraient être formés par seconde. Si on admet qu'un pont est formé au cours d'une réaction chimique catalysée (voir ci-dessous) la fréquence proposée est compatible avec la vitesse d'une réaction enzymatique.

La figure 17-14 illustre une forme possible de relations entre actine et myosine au repos et pendant la contraction.

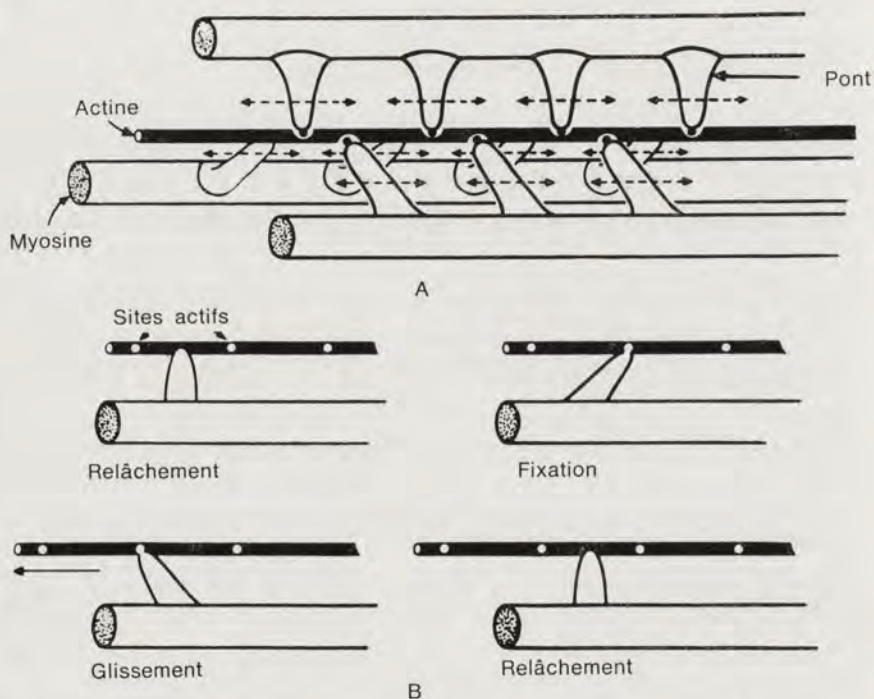


FIG. 17-14. Diagramme montrant un site actif de la myosine et plusieurs sites actifs de l'actine. Lors de l'hydrolyse de l'ATP par la myosine activée, un pont myosinique se fixe à un site actif d'actine puis se replie en entraînant le filament d'actine vers la portion médiane de la bande A. Se détachant ensuite il répète cette opération au niveau du site suivant de l'actine, dans le sens distal, ce qui déplace l'actine à la manière dont le ferait un mécanisme à cliquet (d'après H. E. Huxley, *in* Riegel).

D. L'ACTIVATION DU SYSTÈME CONTRACTILE

Il paraît actuellement bien établi que la contraction dépend de l'activité ATPasique de la myosine. La fibre musculaire contient un inhibiteur de cette activité, c'est le facteur de Marsh-Bendall. Cette action dépend des concentrations en Ca et en Mg. Lorsque Mg est associé au facteur de Marsh-Bendall (X) le muscle est incapable d'hydrolyser l'ATP.

L'activation du système contractile correspond à l'inactivation du facteur de Marsh-Bendall par déplacement du Mg. On peut réaliser cette situation en fournissant du Ca. Dans cette hypothèse X-Mg représente donc un complexe actif inhibant l'activité ATPasique de la myosine et qui rend la contraction impossible.

E. COUPLAGE ÉNERGIE CHIMIQUE - TRAVAIL MÉCANIQUE

On ne dispose actuellement d'aucune information permettant de préciser la nature de la réaction chimique responsable de la formation des ponts postulés dans la théorie du glissement des filaments. Toutefois il paraît évident que les sites opposés de l'actine et de la myosine et responsables de la formation de la liaison sont fermement fixés sur leur protéine respective. En conséquence, dès que l'affinité entre deux sites est telle qu'il y a formation d'une liaison, on observe un déplacement des filaments porteurs des sites.

En tenant compte des caractéristiques biochimiques principales liées aux propriétés de la myosine et de l'actine, Weber a proposé de considérer la synthèse des acides gras comme étant un modèle plausible de la séquence de réactions aboutissant au glissement des filaments. Dans cette conception, l'actine est supposée porter l'équivalent d'une fonction acide qui peut être « activée » par l'ATP.

La myosine porterait une fonction SH (équivalente à celle du CoA) avec laquelle la fonction acide activée de l'actine réagirait pour former une liaison. Cette réaction s'accomplit sans perte appréciable d'énergie libre et est identique à la formation d'un acyl-CoA. Ce dernier peut réagir avec un phénol puis un alcool et l'énergie de l'acyl-CoA est partiellement dissipée puisque l'hydrolyse de la dernière liaison ester ne libère que 2 à 3 Kcal M⁻¹. La fonction acide est de nouveau prête à réagir avec un nouvel ATP et le cycle recommence.

La figure 17-15 illustre schématiquement comment une séquence de réactions peut conduire simultanément à l'hydrolyse de l'ATP et au déplacement d'une molécule d'actine le long d'une molécule de myosine.

F. COUPLAGE POTENTIEL D'ACTION - CONTRACTION

Dans les conditions normales, la contraction d'un muscle est consécutive au potentiel d'action qui parcourt la membrane de la fibre musculaire. Le problème qui se pose est celui de savoir comment la machinerie contractile est mise en marche par l'activité électrique de la membrane.

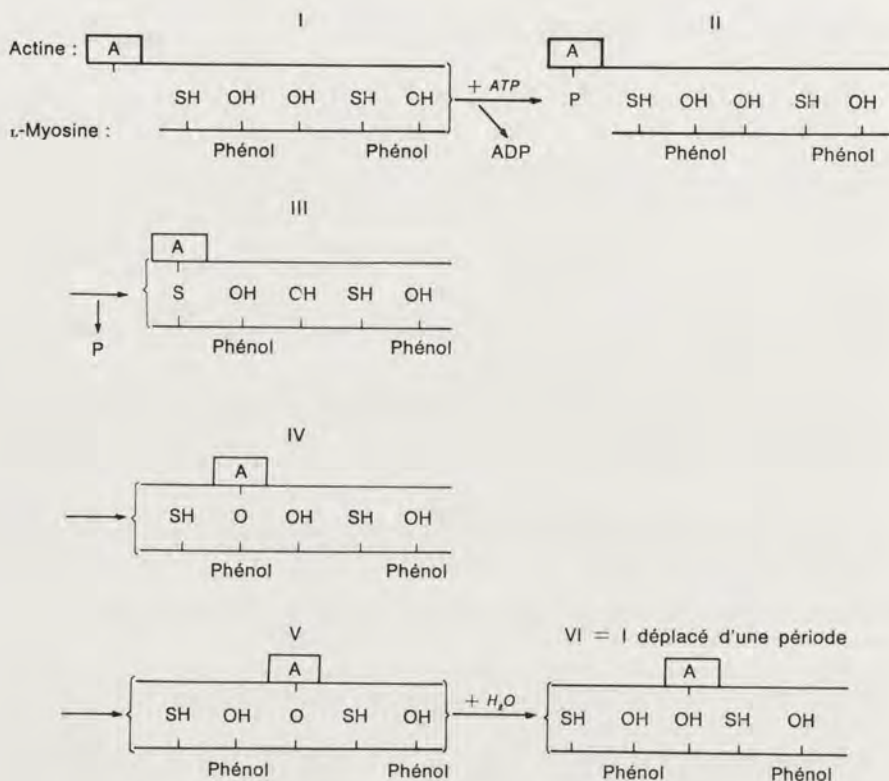


FIG. 17-15. Représentation schématique d'une séquence de réactions conduisant simultanément à l'hydrolyse de l'ATP et au glissement des filaments d'actine et de myosine (d'après H. H. Weber, *in* Nachmansohn).

On a déjà suggéré qu'au cours de l'activité électrique, une substance pourrait être libérée dans la membrane et atteindre, par diffusion, les protéines contractiles. Cette hypothèse doit toutefois être rejetée parce qu'elle est incompatible avec le fait que le délai existant entre l'activité électrique et la réponse mécanique est trop bref pour être attribuable à un phénomène de diffusion ayant son origine dans la membrane.

Les expériences réalisées sur une fibre isolée d'un muscle strié (grenouille) montrent que la stimulation électrique réalisée à l'aide d'une microélectrode n'est effective que si elle est appliquée au niveau du disque Z. La contraction ainsi produite consiste en un raccourcissement des bandes I situées de part et d'autre du disque Z, elle peut se propager vers l'intérieur de la fibre ou encore le long de sa circonférence, mais n'atteint jamais les bandes I adjacentes qui ne sont pourtant éloignées que de 2 μ (Fig. 17-16). Cette observation est évidemment très importante puisqu'elle montre que pour être effectif le potentiel d'action doit arriver au voisinage immédiat d'une zone limitée des protéines contractiles.

Dans le cas de la grenouille, il s'agit du disque Z, alors que chez le lézard la région efficace se trouve entre les bandes A et I.

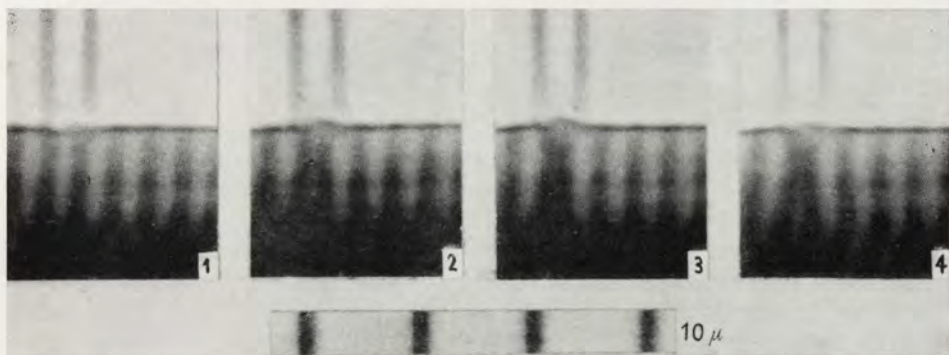


FIG. 17-16. Fragment d'un film (16 vues sec^{-1}) montrant le raccourcissement d'une bande I en réponse à l'abaissement du potentiel d'une micropipette appliquée en face du disque Z. Fibre isolée du semitendineux de la grenouille. Lumière polarisée compensée de telle sorte que les bandes A apparaissent foncées (d'après A. F. Huxley et Taylor).

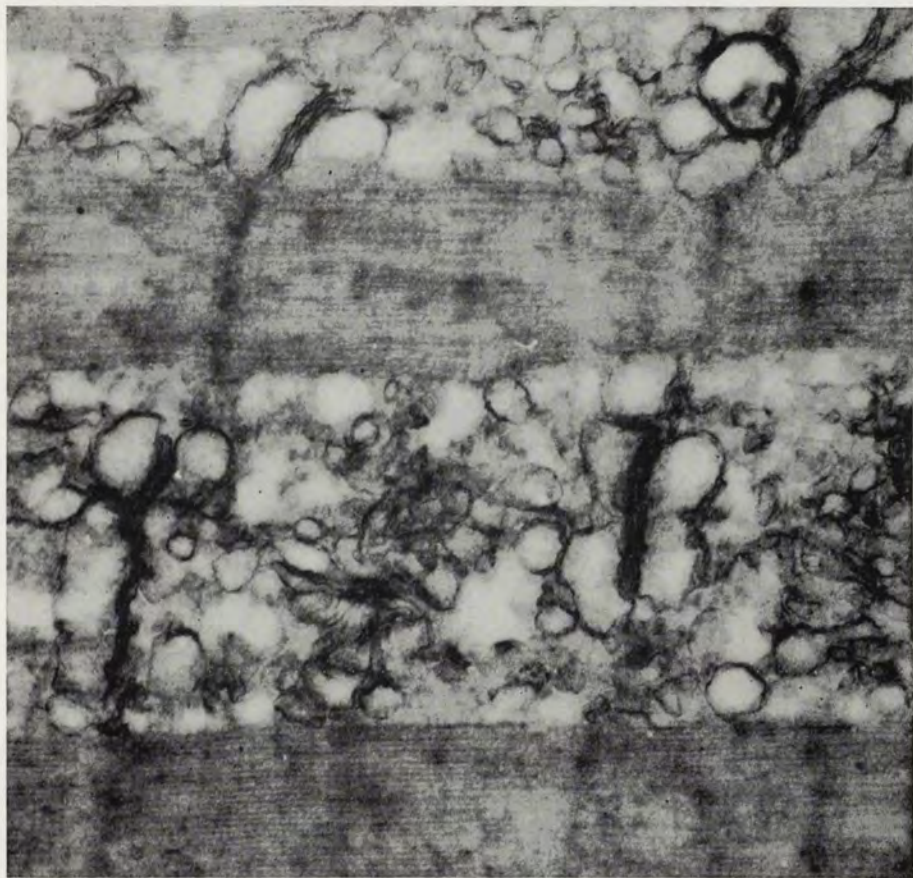


FIG. 17-17. Réticulum endoplasmique du muscle de grenouille. La triade de Porter et Palade comprend les vésicules de la bande I et la vésicule intermédiaire du disque Z. Cette dernière est une structure continue et non une série de petites vésicules (d'après A. F. Huxley).

Bien qu'on ne dispose d'aucune preuve directe, on considère toutefois que le potentiel d'action prenant naissance dans la membrane d'une fibre musculaire est amené à la zone responsable de l'activation des protéines contractiles par l'intermédiaire du réticulum endoplasmique. On a en effet décrit dans le muscle strié une structure particulière du réticulum endoplasmique, la triade de Porter et Palade située au niveau du disque Z chez la grenouille (Fig. 17-17) et entre les bandes A et I chez le lézard. On pense alors que le potentiel d'action venant de la surface du muscle, est amené le long des tubules du réticulum endoplasmique jusqu'à la triade, où il a pour effet de libérer des ions Ca qui inactive- raient le facteur de Marsh-Bendall par déplacement de Mg.

A CONSULTER

- ACKERMAN, E., *Biophysical science*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1962.
- GROSS, J. et SCHMITT, F. O., *J. Exp. Med.*, 1948, **88**, 555.
- HUXLEY, A. F. et TAYLOR, R. E., *J. Physiol.*, 1958, **144**, 426.
- HUXLEY, A. F., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1959, **81**, 446.
- HUXLEY, H. E. et HANSON, J., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1959, **81**, 403.
- NACHMANSOHN, D., *Molecular biology*. Academic Press, New York, 1960.
- RIEGEL, J. A., *Energy, life and animal organisation*. English Univ. Press, London, 1965.
- STEINER, R. F., *The chemical foundations of molecular biology*. Van Nostrand, Princeton, New Jersey, 1965.
- Comparative biochemistry* (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 2 (1960), 5 (1963). Academic Press, New York.
- Comprehensive biochemistry* (Publié sous la direction de M. Florkin et E. H. Stotz). Vol. 3. Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1962.
- Cytodifferentiation and macromolecular synthesis* (Publié sous la direction de M. Locke). Academic Press, New York, 1963.
- The interpretation of ultrastructure* (Publié sous la direction de R. J. C. Harris). Academic Press, New York, 1962.

Contrôle et intégration des voies métaboliques

I. L'étape limitante : définition	523
II. Contrôle de l'étape limitante	525
A. Contrôle de la synthèse de l'enzyme	525
B. Contrôle de l'activité de l'enzyme	527
1. Limitation de la fourniture du substrat	527
2. Inhibition de l'enzyme par un produit de réaction	528
3. Contrôle de l'activité de l'enzyme par les ions, le pH, etc.	528
C. Contrôle de la production d'énergie	528
III. Les événements biologiques cycliques	531

I. L'ÉTAPE LIMITANTE : DÉFINITION

Le métabolisme cellulaire est catalysé par un nombre considérable d'enzymes, de coenzymes et d'ions. La présence d'inhibiteurs et d'activateurs des réactions catalysées, l'existence des cycles biochimiques et le fait qu'un même substrat peut, selon les circonstances, suivre des voies métaboliques diverses permettent de conclure à l'existence de systèmes de contrôle dont le jeu aboutit à l'intégration harmonieuse des différentes réactions chimiques dont la cellule est le siège.

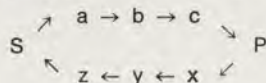
A partir des considérations développées dans d'autres chapitres, nous pouvons formuler des remarques générales à propos de ce contrôle.

A) Pour que l'apport du produit synthétisé se fasse de façon continue, les voies métaboliques suivies doivent être irréversibles, c'est-à-dire s'accomplir avec une perte d'énergie libre importante. Ceci est réalisé lorsque l'ATP est utilisé dans une réaction et plus particulièrement lorsque l'hydrolyse aboutit à la formation d'ADP et de PP_i puisque l'hydrolyse ultérieure de PP_i catalysée par une pyrophosphatase est irréversible. Dans d'autres cas, l'énergie de synthèse provient d'une réaction d'oxydo-réduction impliquant NAD ou NADP dont l'équilibre est tel que l'oxydation du coenzyme réduit est très favorisée.

B) Toutes les réactions sont réversibles comme l'indique la relation liant la constante d'équilibre et les concentrations en substrat et en produit

(loi d'action des masses) : l'équilibre est atteint que l'on parte des produits ou des réactifs. Toutefois la valeur de la constante d'équilibre peut être telle qu'à l'équilibre, la concentration des réactifs soit extrêmement petite par rapport à celle des produits, enlevant ainsi toute signification pratique au caractère réversible de la réaction.

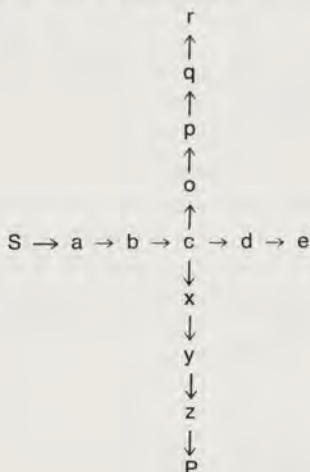
Dans les cas les plus favorables, c'est-à-dire ceux pour lesquels la valeur de la constante d'équilibre est suffisamment petite pour que la variation d'énergie libre accompagnant la transformation des réactifs en produits ne soit pas trop élevée, la réaction pourra s'effectuer dans les deux sens. Les expériences réalisées en biochimie à l'aide d'isotopes ou encore *in vitro* sur des systèmes enzymatiques isolés suggèrent que, *in vivo*, la séquence de réactions constituant une voie métabolique déterminée peut être réversible. En réalité, il en est rarement ainsi et si, par exemple, un substrat S fournit un produit P, selon une série de réactions a, b et c et s'il est démontré expérimentalement qu'il y a réversibilité dans la réaction $S \rightleftharpoons P$, ceci indique en général l'existence d'une autre voie métabolique (x, y, z) expliquant la reconversion de P en S :



Le fonctionnement harmonieux de la cellule implique une certaine coordination entre les différentes voies métaboliques ainsi que l'existence de moyens de contrôle variés permettant de diriger les substrats vers certaines voies métaboliques de préférence à d'autres.

Ce but est atteint non seulement par la réalisation d'une organisation spatiale précise des biocatalyseurs au niveau d'ultrastructure mais aussi grâce à l'intervention de mécanismes régulateurs contrôlant la vitesse de transformation de certains réactifs intervenant à un niveau précis de la séquence des réactions constituant une voie métabolique déterminée.

Si nous considérons le schéma suivant



a, b... e peuvent représenter des intermédiaires d'une voie métabolique

dans laquelle c représente un intermédiaire commun à d'autres voies métaboliques (pyruvate, α -cétylglutarate, acétyl-CoA, par exemple).

x, y et z représentent des intermédiaires aboutissant à la biosynthèse d'un produit P à partir de c. La réaction $c \rightarrow x$ est qualifiée d'étape décisive ou limitante parce que les intermédiaires x, y et z ne jouent pas de rôle métabolique particulier si ce n'est d'être des précurseurs de P.

La régulation de la biosynthèse de P s'accomplira le mieux en contrôlant la vitesse de la réaction $c \rightarrow x$. Ceci est aisément compréhensible puisqu'un contrôle de $b \rightarrow c$ par exemple aboutira à des modifications de la concentration en c avec pour résultat une perturbation de plusieurs voies métaboliques. D'autre part, un contrôle au niveau de la réaction $y \rightarrow z$ aura pour résultat une accumulation éventuelle de x et de y qui pourront atteindre alors un niveau de concentration incompatible avec le fonctionnement normal de la cellule.

Le contrôle de la vitesse de réaction au niveau de l'étape limitante a été amplement démontré en ce qui concerne de nombreuses voies biosynthétiques chez les microorganismes. Chez les organismes multicellulaires, le nombre d'exemples est plus limité, mais les résultats obtenus à ce jour permettent de prévoir que les mécanismes de contrôle ne sont pas fondamentalement différents de ceux observés chez les bactéries ou les levures par exemple.

II. CONTRÔLE DE L'ÉTAPE LIMITANTE

Trois types principaux de contrôle de l'étape limitante peuvent être envisagés.

A) CONTRÔLE DE LA SYNTHÈSE DE L'ENZYME

La concentration de l'enzyme catalysant la réaction limitante peut être contrôlée de différentes façons.

L'inhibition de l'enzyme a pour résultat de diminuer la concentration effective du catalyseur. Cet aspect du problème est examiné plus bas. Un autre mécanisme fait intervenir un contrôle de la synthèse de l'enzyme grâce à l'existence des phénomènes d'induction ou de répression. C'est ainsi que l'addition de tryptophane au milieu de culture d'*Escherichia coli* a pour résultat la cessation immédiate de la synthèse de la synthétase du tryptophane (L-sérine hydro-lyase E. N. 4.2.1.20).

De la même façon, l'accumulation de phosphate inorganique aboutit à la diminution progressive de la synthèse de la phosphatase alcaline (E. N. 3.1.3.1).

Ce phénomène de répression est plus ou moins rapide : il est parfois instantané mais peut nécessiter quelques heures notamment dans le cas des cellules animales [exemple de la répression de la D-glutamyltransférase (E. N. 2.3.2.1) par la glutamine].

Le phénomène d'induction, l'inverse du précédent, a pour résultat un accroissement de la synthèse de l'enzyme par l'augmentation de la concentration ou par l'adjonction du substrat.

Il y a beaucoup d'analogies entre la répression et l'induction et bien que le détail des deux processus ne soit pas encore établi, on considère qu'ils ont une base commune. Si on ajoute du phényl- β -galactoside au milieu de culture d'*E. coli*, la β -galactosidase (E. N. 3.2.1.23) est produite immédiatement. Le schéma qui est actuellement proposé est le suivant. Des gènes dits structuraux sont responsables de la formation de mRNA qui peut se réaliser grâce à la présence d'un gène opérateur. L'ensemble de ces gènes constitue l'opéron.

Une substance régulatrice, le répresseur, est synthétisée grâce à l'existence d'un gène dit répresseur. Le répresseur est inhibé par l'inducteur, ce qui permet la synthèse des protéines considérées. En l'absence d'inducteur, le répresseur agit au niveau de l'opéron, ce qui se traduit par un arrêt de la synthèse protéique (Fig. 18-1).

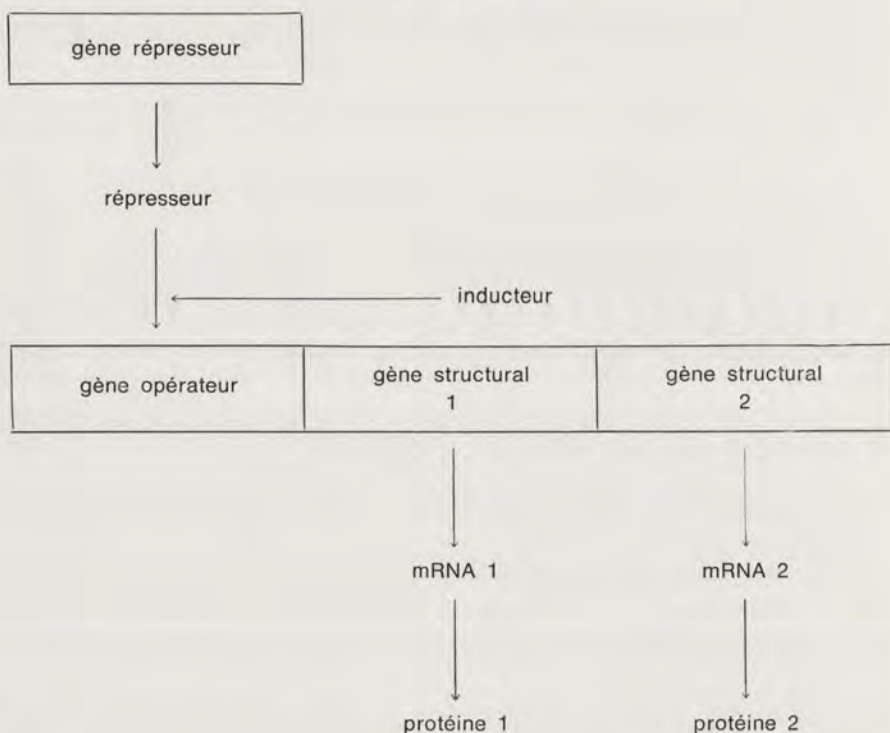


FIG. 18-1. Régulation de la synthèse d'un enzyme. Explications dans le texte (d'après Jacob et Monod).

Enfin la synthèse de protéines à caractère enzymatique ou jouant un rôle qui n'est pas encore bien précis au niveau d'une réaction limitante, peut être contrôlée par des hormones. On envisage ce type d'interprétation pour expliquer le rôle de l'aldostérone dans le transport actif de sodium.

B) CONTRÔLE DE L'ACTIVITÉ DE L'ENZYME

1. Limitation de la fourniture du substrat

Lorsque la fourniture d'un substrat est limitée, les réactions subséquentes sont automatiquement ralenties. Si l'arginine est utilisée presque entièrement pour la synthèse des protéines, la formation d'ornithine sera réduite avec pour conséquence une inhibition du cycle de l'urée. De même une synthèse accrue de protéines entraînera une diminution de la production d'ammoniaque résultant des désaminations. En conséquence le carbamyl-phosphate ne sera pas ou peu synthétisé, entraînant un ralentissement du cycle de l'urée (Fig. 18-2).

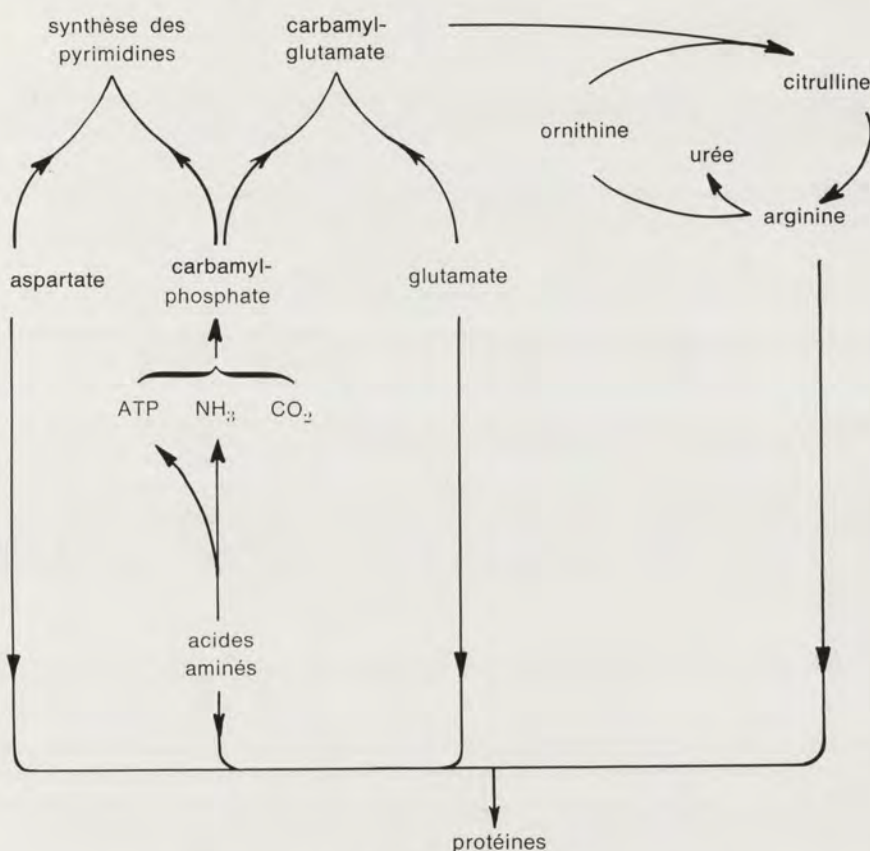


FIG. 18-2. Compétition de substrats pour diverses voies métaboliques.

L'effet Pasteur, ou sa réciproque, l'effet Crabtree, qui sera examiné plus avant constitue un autre exemple illustrant cette notion de la compétition de deux voies métaboliques (le cycle de Krebs et la glycolyse) pour les substrats ADP et P_i .

2. Inhibition de l'enzyme par un produit de réaction

Un des intermédiaires peut inhiber non compétitivement l'enzyme catalysant la réaction limitante. Certains exemples sont donnés dans le tableau 18-1.

Tableau 18-1
QUELQUES EXEMPLES D'INHIBITION D'UNE VOIE BIOSYNTHÉTIQUE
PAR LE PRODUIT TERMINAL
(d'après Moyed et Umbarger)

Produit terminal	Réaction inhibée	Organisme ou tissu
Arginine	ac. N-acétylglutamique → N-acétyl- γ -glutamylphosphate	<i>M. glutamicus</i>
Isoleucine	Thréonine → ac. α -cétobutyrique	<i>E. coli</i>
Histidine	ATP + 5-phosphoribosylpyrophosphate → phosphoribosyl-ATP	<i>S. typhimurium</i>
Lysine	ac. aspartique → β -aspartylphosphate	<i>E. coli</i>
Sérine	phosphosérine → sérine	foie de rat
Valine	ac. pyruvique → ac. acétolactique	<i>E. coli</i> <i>A. aerogenes</i>
CTP	ac. aspartique + carbamyl-phosphate → ac. uréidosuccinique	<i>E. coli</i>
ATP	5-phosphoribosylpyrophosphate + glutamine → 5-phosphoribosylamine	foie de pigeon

Si le métabolite inhibiteur n'est pas le produit direct de la réaction catalysée, mais bien celui d'une réaction plus loin située dans la séquence, on parlera d'inhibition par un mécanisme de feedback. Par exemple, certains enzymes impliqués dans la synthèse du monophosphate d'uridine sont inhibés par certains produits apparaissant à d'autres niveaux de la séquence (Fig. 18-3).

3. Contrôle de l'activité de l'enzyme par les ions, le pH, etc.

L'activité de l'enzyme catalysant l'étape limitante peut également être contrôlée par la composition ionique du liquide intracellulaire. Un exemple de ce type de contrôle est fourni par l'action des ions inorganiques sur l'activité de la déshydrogénase du glutamate, de la fumarase ou encore de certaines ATPases dont le rôle biologique est discuté au chapitre 10.

C) CONTRÔLE DE LA PRODUCTION D'ÉNERGIE

Pasteur a montré que les cellules de levure en conditions aérobies utilisent moins de glucose qu'en anaérobiose avec pour conséquence une production accrue de nouvelles cellules de levure (effet Pasteur, p. 284).

Il s'agit là de l'illustration d'un principe fondamental qui peut s'énoncer simplement : l'énergie n'est produite que si elle est utilisée (¹). Le contrôle de la production d'énergie ou plus exactement des molécules à potentiel énergétique élevé qui sont la source de l'énergie libre cellulaire, s'effectue dans la mitochondrie au niveau de la chaîne respiratoire (phosphorylations de la chaîne respiratoire) et dans le cytoplasme au niveau de la glycolyse.

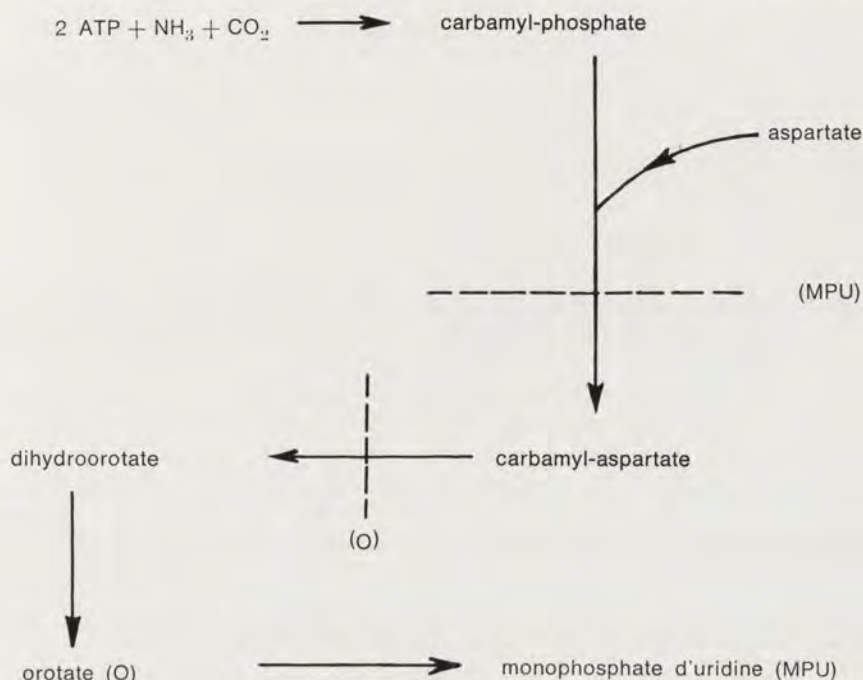


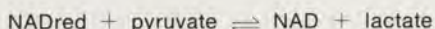
FIG. 18-3. Schéma de la synthèse du monophosphate d'uridine illustrant la notion d'inhibition par un mécanisme de feedback. Les lignes en pointillés indiquent les étapes de la séquence qui sont inhibées par les produits.

Dans les deux cas l'utilisation du substrat est arrêtée si le phosphate inorganique ou l'ADP ne sont plus disponibles.

Si on considère dans la glycolyse la transformation du 3-phosphoglyceraldéhyde en phosphoglycérate qui s'accompagne d'une phosphorylation de l'ADP (phosphorylation au niveau du substrat), nous pouvons illustrer la façon dont fonctionnent certains mécanismes contrôlant la production d'énergie. La première étape, l'oxydation du 3-phosphoglyceraldéhyde s'accompagne de la réduction du NAD avec production d'un complexe phosphoglycéril-enzyme. Cette étape est contrôlée par ce qu'on appelle l'inhibition par un des produits. En effet NADred est un inhibiteur puissant

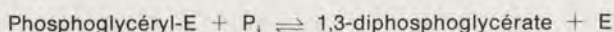
(¹) On peut trouver un exemple illustrant ce principe dans les phénomènes de transport actifs : dans la peau de batraciens il y a une relation entre la consommation d'oxygène et le transport actif de Na. Le flux de Na peut d'autre part être amené à un niveau donné à l'aide d'une force électromotrice externe, avec pour conséquence un ajustement de la consommation d'oxygène au nouveau besoin énergétique créé par cette modification du transport actif.

de cette étape oxydative. Pour que la glycolyse se poursuive il faut éliminer NADred au fur et à mesure de sa production. Un accepteur d'hydrogène est requis, en l'occurrence le pyruvate. La deuxième étape peut donc s'écrire



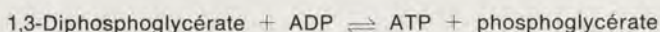
Comme le pyruvate est formé à partir de phosphoénolpyruvate en présence d'ADP, on dispose ainsi d'un mécanisme de contrôle supplémentaire.

La troisième étape est représentée par la rupture du complexe enzyme acylé en présence de phosphate



Elle est contrôlée par deux facteurs : la réaction dans le sens gauche-droite est très peu favorable du point de vue thermodynamique, ensuite le 1,3-diphosphoglycérate inhibe le processus de l'oxydation.

Enfin, au cours de la quatrième étape le phosphate est transféré sur l'ADP



Le bilan de cette séquence de réaction est donc la production d'ATP : le substrat n'est toutefois utilisé que si on dispose d'ADP et de phosphate inorganique.

Dans le cas de la mitochondrie, nous savons qu'à trois niveaux différents de la chaîne respiratoire la réaction d'oxydo-réduction est couplée à celle de la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de P_i .

Les étapes intermédiaires ne sont pas connues mais on considère actuellement qu'il s'agit d'un processus superficiellement analogue à la séquence décrite pour le 3-phosphoglyceraldéhyde.

Les facteurs de couplage qui ont été isolés de la mitochondrie sont des protéines dont la présence est nécessaire pour le déroulement des phénomènes de phosphorylation. Certaines substances comme le 2,4-dinitrophénol, la désaspidine, le dentachlorophénol, les acides gras non saturés, inhibent les phosphorylations de la chaîne respiratoire par inhibition d'un ou plusieurs facteurs de couplage, ce qui suggère que des inhibiteurs naturels pourraient exercer un contrôle à ce niveau.

Quant à la chaîne respiratoire, son mécanisme de contrôle est mal connu ; il pourrait être situé au niveau de la déshydrogénase du NADred (E. N. 1.6.99.3).

Des exemples présentés ci-dessus, nous pouvons donc conclure que le contrôle de la réaction limitante s'exerce à trois niveaux principaux :

- 1) la synthèse et la dégradation des enzymes ;
- 2) l'activité de l'enzyme ;
- 3) la production des molécules à niveau énergétique élevé qui constituent la source d'énergie libre intracellulaire.

Le tableau 18-2 résume les mécanismes invoqués ainsi que les moyens de contrôle mis en œuvre.

Tableau 18-2
CONTRÔLE DES CYCLES MÉTABOLIQUES
(d'après E. Racker)

Mécanisme	Moyens de contrôle
I. Synthèse et dégradation des enzymes	
1. Induction de la synthèse	Substrat ou analogue du substrat
2. Répression de la synthèse	Produits terminaux des voies biosynthétiques
3. Cinétique de la synthèse	a) Disponibilité en acides aminés b) Activité des enzymes impliqués dans la synthèse des protéines, DNA, sRNA, mRNA, ribosomes, etc. c) Disponibilité en énergie
4. Dégradation	Protection de l'enzyme par les coenzymes, les substrats et les métabolites
II. Activité de l'enzyme	
A. Concentration en enzyme	
1. Inhibition	Inhibition par <i>feedback</i> , par le produit de la réaction, par d'autres métabolites, par les ions, etc.
2. Activation	Hormones, cofacteurs, ions, métabolites, etc.
B. Disponibilité en substrats, cofacteurs et en énergie	
1. Cinétique des systèmes plurienzymatiques	Disponibilité en substrats, cofacteurs, etc.
2. Compétition avec d'autres voies métaboliques	Valeurs des K_m , excès d'activité permettant la compétition avec d'autres systèmes enzymatiques, etc.
III. Production des molécules à contenu énergétique élevé	Facteurs favorisant leur formation, agents naturels de découplage, etc.

III. LES ÉVÉNEMENTS BIOLOGIQUES CYCLIQUES

Les systèmes biologiques sont caractérisés non seulement par le contrôle intégré des séquences métaboliques, mais aussi par l'existence de phénomènes cycliques dont la division cellulaire, le cycle menstruel, les fièvres récurrentes sont, parmi d'autres, des exemples. La régularité de la fréquence de certaines de ces manifestations cycliques est telle qu'on les décrit parfois sous le nom d'horloge biologique. Dans de nombreux cas, étudiés en détail, il apparaît que c'est la variation régulière de l'activité de certains enzymes qui permet d'expliquer le caractère cyclique du phénomène. C'est pourquoi les mécanismes de contrôle décrits ci-dessus et résumés dans le tableau 18-2 sont généralement invoqués pour expliquer les phénomènes biologiques à caractère cyclique.

A CONSULTER

MOYED, H. S. et UMBARGER, H. E., *Phys. Rev.*, 1962, **42**, 444.

RACKER, E., *Israel J. Med. Sci.*, 1965, **1**, 1120.

SCHOFFENIELS, E., *Cellular aspects of membrane permeability*. Oxford, Pergamon Press, 1966.

WATSON, J. D., *Molecular biology of the gene*. Benjamin, New York, 1965.

Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 6. Academic Press, New York, 1964.

CHAPITRE 19

Métabolisme global et cycles de la biosphère

I. Entrées dans la biosphère	534
A. Carbone et énergie	534
1. Bactéries nitreuses	534
2. Bactéries nitriques	535
3. Bactéries sulfureuses incolores	535
B. Phosphore	536
C. Azote	536
1. Fixation au niveau des nodules des racines de légumineuses	537
2. Fixation par des organismes libres	539
a) <i>Clostridium</i>	539
b) myxophycées	539
c) bactéries pourpres	539
d) <i>Azotobacter</i>	540
3. Mécanisme général de la fixation d'azote	540
D. Soufre	541
II. Sorties de la biosphère	541
A. Ammonification dans le sol	541
B. La sortie du carbone	544
1. Sortie du carbone des macromolécules glucidiques	544
a) amidon	544
b) pectines	544
c) cellulose	544
2. Sortie du carbone des acides aminés	544

III. Les cycles	545
A. Cycle du carbone	545
B. Cycle de l'azote	546
C. Cycle du soufre	549
D. Circulation du phosphore	550
E. Métabolisme de la biosphère	551

I. ENTRÉES DANS LA BIOSPHERE

A) CARBONE ET ÉNERGIE

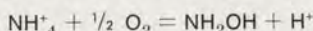
Il existe des organismes capables, par des mécanismes chimiques qui leur sont propres, d'introduire en certains points de leur métabolisme un apport d'énergie extérieure, énergie chimique ou électromagnétique.

A la synthèse des glucides à partir de CO_2 et d'énergie chimique, on donne le nom de chimiosynthèse. Tous les organismes sont chimiosynthétiques dans ce sens. Mais certains organismes, appelés chimioautotrophes, accomplissent la synthèse des glucides au moyen de l'énergie résultant d'une oxydation par l'oxygène moléculaire (autoxydation) d'un constituant inorganique présent dans leur milieu, c'est-à-dire en dehors de la biosphère telle que nous l'avons définie, et ils édifient la totalité, ou une partie, de la matière organique qui les compose, à partir de CO_2 , de H_2O et d'autres substances inorganiques telles que l'ammoniaque, les sulfates et les phosphates. Quant à la photosynthèse, autre forme d'autotrophie, dont le mécanisme a été décrit plus haut, elle existe chez certaines bactéries et chez des algues, chez les diatomées, chez les plantes vertes, etc.

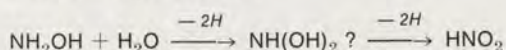
1. Bactéries nitréuses

Elles accomplissent une nitrification (sels ammoniacaux $\rightarrow$ nitrites). Ces bactéries sont nombreuses et appartiennent en particulier aux genres *Nitrosomonas* (aérobies, très répandus dans le sol de l'Eurasie, ovoïdes ou sphériques, pouvant se mouvoir en milieu liquide grâce à l'existence de leur flagelle, se groupant en zoogléas mucilagineuses) et *Nitrosococcus* (dans le sol américain, toujours immobiles).

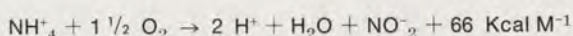
La chimiosynthèse des glucides chez les bactéries nitreuses débute par une oxydation de l'ammoniaque en hydroxylamine :



L'hydroxylamine est transformée en nitrite par des voies encore discutées. On admet le schéma provisoire :



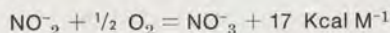
L'aspect énergétique global de la réaction d'oxydation s'exprime comme suit :



2. Bactéries nitrifiques

Elles oxydent les nitrites en nitrates et opèrent ainsi une nitratation. Parmi les bactéries nitrifiques on trouve le *Nitrobacter*, bacilliforme, immobile, aérobic.

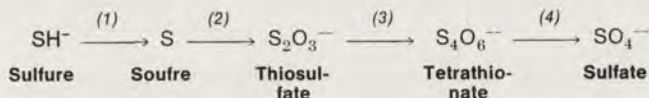
L'énergétique de la réaction, dont les formulations varient avec les auteurs, est la suivante :



3. Bactéries sulfureuses incolores

Certaines sont aérobies, d'autres sont anaérobies. Parmi les aérobies, citons comme exemple le *Thiobacillus thioparus* et le *Thiobacillus thiooxydans*. Le premier existe dans le sol sous la forme de petits bâtonnets. Il prolifère quand le milieu est neutre. Il oxyde les thiosulfates (hyposulfites) ou les sulfures, avec libération de sulfate et parfois de soufre à l'intérieur de la cellule. Le *Thiobacillus thiooxydans* se trouve dans les sols au voisinage des dépôts de soufre. Il produit de grandes quantités de H_2SO_4 et ne croît qu'en milieu acide ($\text{pH} = 2.0 - 3.0$). Il oxyde le soufre ou le thiosulfate en acide sulfurique. Certains autres autotrophes oxydant le soufre sont anaérobies. C'est le cas pour *Thiobacillus denitrificans* qui oxyde le soufre, ou H_2S ou $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (avec formation de H_2SO_4).

On peut d'une manière générale formuler la suite de réactions conduisant à l'oxydation du soufre et de ses dérivés inorganiques, selon le schéma suivant :



les libérations successives d'énergie correspondant à : (1) 40 Kcal M^{-1} , (2) 15 Kcal M^{-1} , (3) 5 Kcal M^{-1} , (4) 100 Kcal M^{-1} .

On connaît peu de chose au sujet de ces réactions, et on ignore la nature des enzymes mis en jeu. On sait seulement que l'oxydation du soufre par *Thiobacillus thiooxydans* est inhibée par les inhibiteurs des systèmes mettant en jeu le cytochrome.

A côté des bactéries simples dont il vient d'être question, il en est de morphologiquement plus complexes, comme *Thiothrix* et *Beggiatoa* qui oxydent H_2S en H_2SO_4 et tirent parti de l'énergie fournie par cette réaction pour accomplir leurs synthèses de chaînes carbonées. Ce sont des aérobies qui présentent des globules de soufre intracellulaires. Ils exigent, outre CO_2 et O_2 , la présence de H_2S . Aussi longtemps que ce dernier est présent, ces bactéries peuvent utiliser la réserve de leurs grains de soufre. Elles meurent quand cette provision est épuisée.

B) PHOSPHORE

Son entrée dans les végétaux verts est la porte principale d'introduction dans la biosphère. Si nous considérons un végétal, le milieu dans lequel vivent ses racines est extrêmement complexe. Le phosphore y est sous la forme de sels de calcium, de fer ou d'aluminium, très peu soluble, d'anions adsorbés sur les particules du sol, et de composés organiques qui sont des sels dérivés des débris de cadavres de plantes, d'animaux et de microorganismes (sels de fer, d'aluminium ou de calcium de la phytine qui est un hexaphosphate de méso-inositol, et de nucléoprotéines). Dans les sols neutres ou calcaires, les sels de calcium des formes organiques du phosphore sont plus solubles et mieux à la disposition de la décomposition bactérienne. Ce sont les phosphates solubles qui sont concentrés par les racines et transportés par le xylème dans le végétal jusqu'aux cellules actives.

C) AZOTE

En général les plantes enlèvent au sol des nitrates. D'ailleurs les autres formes d'azote du sol, comme l'azote aminé et l'ammoniaque, sont rapidement converties en nitrates par le jeu successif de nombreux microbes hétérotrophes et des microorganismes autotrophes qui utilisent comme fournisseur d'énergie la transformation d'ammoniaque en nitrite (bactéries nitreuses) ou la transformation de nitrite en nitrate (bactéries nitriques). Le nitrate absorbé peut être accumulé dans la plante, ou réduit en nitrite puis en ammoniaque que la plante utilise, notamment pour former des acides aminés.

En outre, un petit nombre d'organismes sont capables d'utiliser l'azote atmosphérique, de le réduire et d'en faire de l'ammoniaque ou des groupements aminés.

L'océan est pauvre en organismes fixateurs d'azote : il reçoit ce dernier avec l'eau de ses affluents. Le Mississippi, à lui seul, déverse annuellement 360 000 tonnes d'azote, sous la forme de nitrates, dans le Golfe de Mexico. L'azote du sol est donc continuellement dégarni par ces actions, et rétabli par la putréfaction, par la transformation de l'azote de l'air en nitrates sous l'action des décharges électriques accompagnant les orages, et par l'activité des fixateurs d'azote, qui sont des bactéries libres ou des bactéries vivant en symbiose avec des végétaux.

La fixation de l'azote est en fait un phénomène très répandu dans la biosphère. Son mécanisme, encore peu connu, apparaît comme n'étant pas uniforme. Toutefois on peut dire que l'azote que l'on trouve dans les composés azotés de la biosphère provient totalement de l'atmosphère, et que la plus grande partie de ces composés résulte de l'activité des micro-organismes.

1. Fixation au niveau des nodules des racines de légumineuses

C'est à Boussingault que revient le mérite d'avoir établi en 1838 que les légumineuses fixent l'azote de l'air. Après une période de grande confusion, les vues de Boussingault furent en 1885 confirmées aux Etats-Unis



FIG. 19-1. Système racinaire de *Phaseolus vulgaris* (haricot), avec nodosités à *Rhizobium* fixatrices d'azote atmosphérique (d'après Bonnier).

par Atwater. Vers le milieu du XIX^e siècle, une relation fut établie entre ce phénomène et la présence, déjà notée en 1679 par Malpighi, des nodosités radiculaires des légumineuses. La présence dans les nodules, de bactéries en forme de bâtonnets associées en filaments, fut décrite en 1858 déjà, mais elle fut incorrectement interprétée par les morphologistes dont les vues prévalurent pendant trente années, jusqu'à l'isolement en culture pure, par Beijerinck, en 1888, des bactéries des nodules. Les bactéries parasitant les racines des diverses légumineuses sont très voisines et on les réunit dans le genre *Rhizobium*. Ces bactéries, qui ne sont pas cellulassiques, doivent

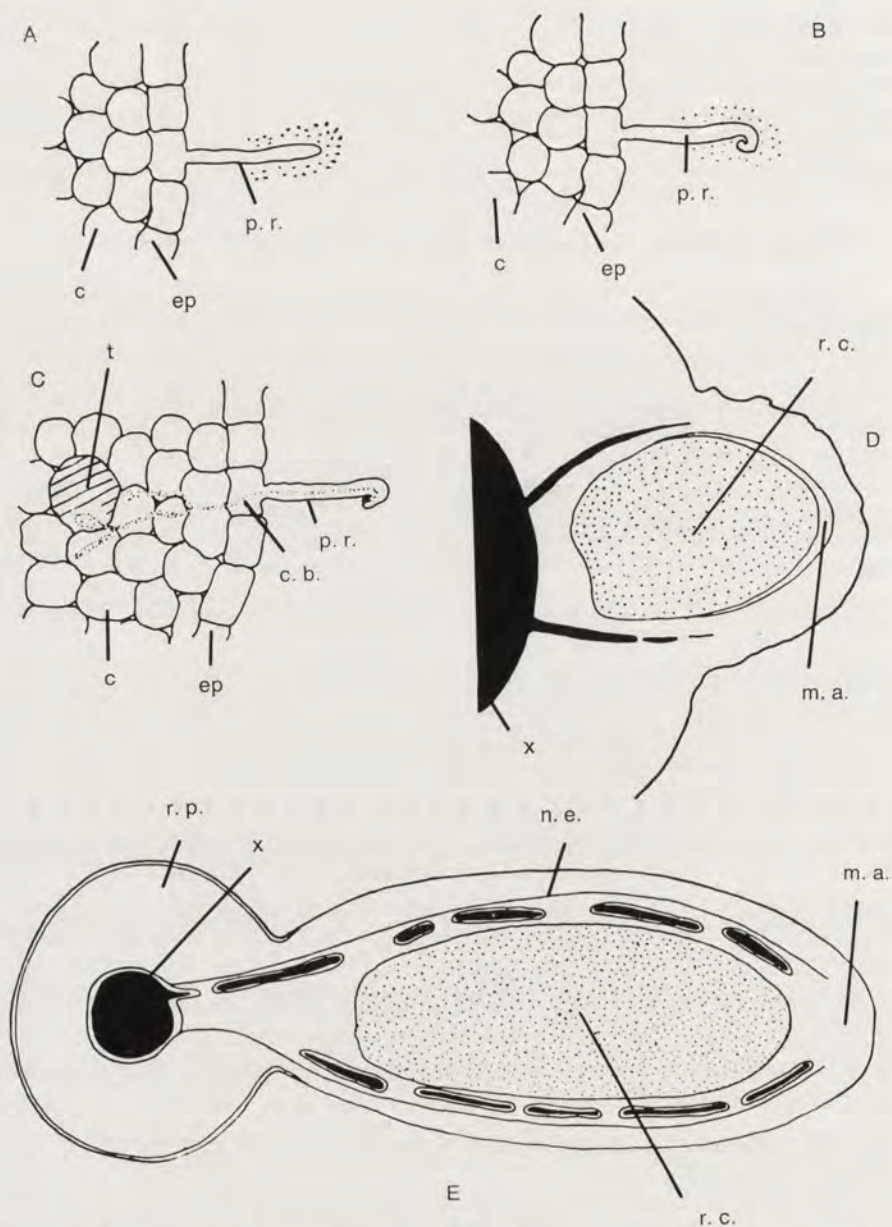


FIG. 19-2. Formation et structure d'une nodosité racinaire de pois (d'après Stewart).

A. Aggrégation de *Rhizobium* autour d'un poil racinaire.

B. Le poil racinaire se courbe.

C. Les *Rhizobium* pénètrent dans le poil racinaire et contaminent une cellule tétraploïde, avec pour conséquence une stimulation de l'activité du méristème.

D. La région centrale contaminée et le méristème apical de la nodosité sont visibles.

E. Section longitudinale à travers une nodosité montrant la région centrale contaminée, le méristème apical et la nodosité endodermique.

m.a. : méristème apical ; c. : cortex ; ep. : épiderme ; r.c. : région contaminée ; c.b. : cordon bactérien ; p.r. : poil racinaire ; t. : cellule tétraploïde ; n.e. : nodosité endodermique ; r.p. : racine principale ; x. : xylème.

pénétrer par l'extrême pointe des poils radiculaires, qui apparaît comme dépourvue de cellulose.

Ni les bactéries, ni la plante, considérées isolément, ne fixent d'azote. Leur association, non seulement fixe l'azote, mais excrète dans le sol des composés azotés : acide aspartique, acide glutamique, acide oximino-succinique, etc.

2. Fixation par des organismes libres

En 1883, Berthelot montra que la terre s'enrichit en azote par le seul contact avec l'air, sauf si elle est stérilisée : il conclut à l'existence, dans le sol, de microorganismes fixateurs d'azote.

a) *Clostridium*

Le premier de ces microorganismes qui ait été isolé, par Winogradsky en 1890, est le *Clostridium pasteurianum*, encore appelé *Amylobacter*. Chez cet anaérobie, la fixation n'est pas, comme chez les *Rhizobium*, inhibée par l'oxyde de carbone. Le pouvoir de fixation de l'azote est répandu chez les *Clostridia* et on l'a aussi mis en évidence chez un autre anaérobie, *Desulfovibrio*, qui est aussi réducteur des sulfates.

b) *Myxophycées* (Algues bleues)

Ces algues, et notamment celles des genres *Nostoc* (Fig. 19-3) et *Anabaena*, fixent l'azote lentement. Cette fixation étant inhibée par l'ammoniaque et les nitrates, elle ne peut avoir de rôle quantitativement important dans les sols.

c) Bactéries pourpres

De nombreuses bactéries du groupe des athiorhodacées (bactéries pourpres non sulfureuses) fixent l'azote. Cette fixation est liée à la croissance et ne s'opère qu'à la lumière et en présence d'oxygène.



FIG. 19-3. Coupe réalisée dans une algue bleue (*Nostoc muscorum*) et montrant l'organisation du système pigmentaire en lamelles, situées dans la région externe du cytoplasme (chromatoplasme). La région centrale, ou centroplasma, est dépourvue de noyau. Elle est riche en DNA. $\times 32\,000$ (d'après Menken).

d) *Azotobacter*

Ces bactéries ressemblent à certaines algues bleues et leurs dimensions sont exceptionnelles. Elles forment facilement des gommages et elles sont aérobies obligatoires. La fixation de l'azote ne s'accomplit chez elles qu'en présence d'une source de carbone, et elle est sans doute liée à son oxydation. Une partie de l'azote fixé est excrété dans le milieu sous la forme d'acides aminés.

3. Mécanisme général de la fixation d'azote

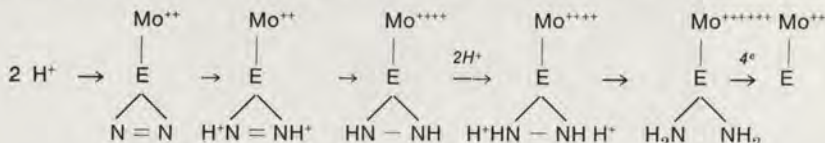
Aussi bien en ce qui concerne les nodules que les bactéries libres, l'hydroxylamine a d'abord été considérée comme un intermédiaire vraisemblable, au cours de la fixation de l'azote. Cependant, l'hydroxylamine est très toxique. D'autre part, l'hydroxylamine marquée au moyen de ^{15}N n'est pas utilisée par les bactéries fixatrices d'azote.

La voie métabolique débute par N_2 et il est par conséquent vraisemblable qu'elle implique la participation d'un terme intermédiaire contenant deux azotes. On a donc pensé à l'hydrazine, N_2H_4 . Elle est toxique il est vrai, mais contrairement à l'hydroxylamine, elle est absorbée par *Azotobacter*, cette absorption étant inhibée par l'ammoniaque. Cependant, sa toxicité est grande et les expériences isotopiques l'ont fait écarter en qualité d'intermédiaire.

Azotobacter et *Clostridium* utilisent rapidement l'ammoniaque. Si *Azotobacter* est maintenu pendant trois minutes au contact de $^{15}\text{NH}_4^+$, on trouve la proportion la plus élevée de ^{15}N dans le glutamate et dans l'aspartate et c'est ce qu'on observe aussi après 90 minutes de contact avec ^{15}N gazeux. Le molybdène apparaît comme essentiel pour l'accomplissement de la fixation d'azote.

On peut penser qu'un enzyme spécifique (nitrogénase) se combine avec une molécule de N_2 et que le molybdène est le métal actif dans l'intervention de cet enzyme. Le molybdène, dont la valence varie entre 2 et 6, interviendrait, avec un changement de valence, dans la séparation des deux atomes d'azote, dont l'énergie de liaison est de 225 000 calories, ce qui implique la nécessité de l'intervention d'une quantité élevée d'énergie.

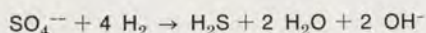
La nitrogénase, non seulement fixerait l'azote, mais le mettrait au contact de protons et l'enzyme, au cours d'un changement de valence du métal, catalyserait la fourniture d'une quantité d'électrons suffisante pour amener les hydrogènes à se fixer. Par transamination, les deux fonctions amines seraient enlevées par des acides cétoniques, et la chaîne de transfert d'électrons ramènerait le molybdène à sa valence initiale.



Si cette chaîne de réactions apparaît comme vraisemblable, on ne peut encore la tenir comme définitivement établie.

D) SOUFRE

Les plantes absorbent et assimilent les sulfates. Le sol contient beaucoup de sulfate de calcium. Il existe des bactéries réduisant ces sulfates en H_2S . De telles bactéries vivent par exemple dans les boues, dans l'intestin des animaux, etc. et partout où on trouve des matières organiques en putréfaction.



Les sulfures formés dans le sol ou dans les eaux peuvent être à nouveau transformés en sulfates, soit par une opération purement chimique, soit par l'action de diverses bactéries, bactéries sulfureuses incolores, bactéries sulfureuses pourpres, etc.

II. SORTIES DE LA BIOSPHÈRE

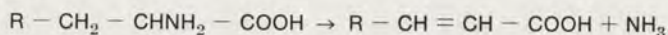
Le sol et les eaux sont les tombeaux naturels des plantes et des animaux. Dans ces portions de la lithosphère et de l'hydrosphère, la matière biosphérique retourne au monde inorganique : l'azote des protéines devient ammoniacque et nitrates, le carbone est généralement oxydé en carbonates et les autres éléments retrouvent les formes inorganiques. Déjà d'ailleurs les organismes vivants restituent au monde inorganique un continuel apport sous la forme du CO_2 résultant de la respiration et sous la forme des excreta du métabolisme. Excreta et cadavres sont minéralisés dans le sol et dans les eaux par l'action des microorganismes. Ces derniers eux-mêmes s'autolysent lorsque les conditions défavorables interrompent leur multiplication.

Particulièrement importants sont les processus au cours desquels l'azote et le carbone sortent de la biosphère pour regagner le monde de l'inorganique.

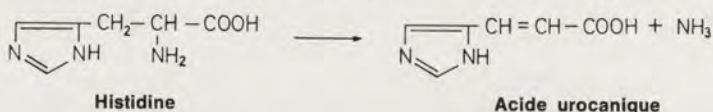
A) L'AMMONIFICATION DANS LE SOL

Les cadavres et les excreta d'êtres vivants sont attaqués dans le sol par les exoenzymes de nombreuses bactéries (par exemple, clostridies) et leurs protéines sont transformées en acides aminés. A partir de ces acides aminés de nombreuses bactéries libèrent de l'ammoniacque. Les plus actifs ammonifiants sont *Bacillus mycoides*, *Proteus vulgaris* et divers actinomycètes. La méthode la plus importante quantitativement dans l'ammonification est la désamination oxydative.

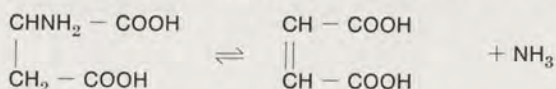
Les bactéries du sol peuvent aussi accomplir une désamination désaturative



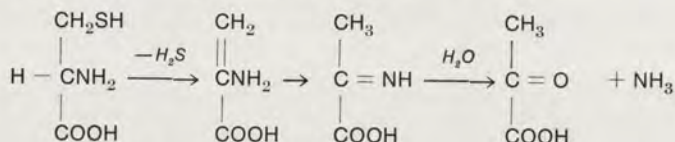
C'est ainsi que l'histidine peut être transformée par des bactéries du groupe *coli-typhosum* en acide urocanique.



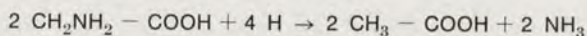
De même l'acide aspartique est converti en acide fumarique par *E. coli*.



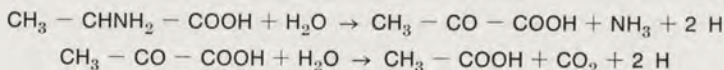
L'enlèvement de H_2S de la cystéine est suivi d'une désamination, accomplie partiellement par *Proteus vulgaris*.



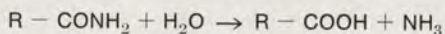
Un autre procédé de désamination est la désamination réductive, opérée anaérobiquement par les clostridies. Le glycolle donne de l'acide acétique, l'alanine et la sérine de l'acide propionique, etc. Bien que l'hydrogène intervienne évidemment dans la réaction, cette dernière ne comporte que des aminoacides. Par exemple deux moles de glycolle sont réductivement désaminées en présence de *Cl. sporogenes* tandis qu'une mole d'alanine est oxydée en acide acétique



L'hydrogène, accepté par le glycolle, provient de l'oxydation d'une mole d'alanine en acide acétique selon les équations :



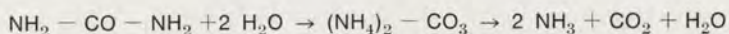
Le groupe aminé des acides aminés n'est jamais directement hydrolysable par les bactéries. Ces dernières peuvent libérer NH_3 par hydrolyse des amides, telles que l'asparagine et la glutamine.



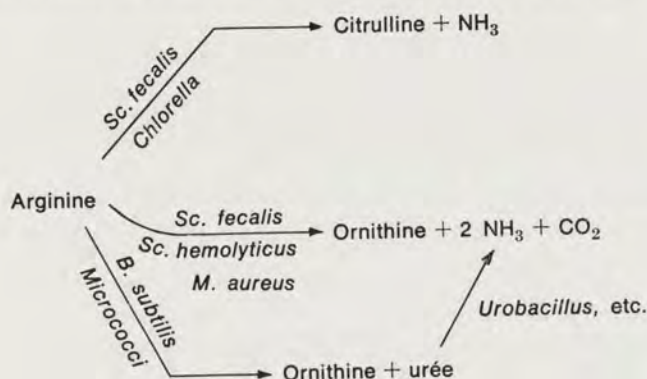
Une source d'ammoniaque du sol est l'urée résultant de l'hydrolyse de l'arginine par divers microorganismes, en ornithine et urée (*microcoques*, *Bacillus subtilis*).

D'autre part, certaines bactéries peuvent donner de la citrulline à partir de l'arginine avec désamination hydrolytique portant sur le groupement NH , mais la citrulline n'est métabolisée que très lentement.

Grâce à la présence d'uréase dans leurs cellules, beaucoup de bactéries hydrolysent l'urée, que sa source soit celle citée ci-dessus, ou l'excrétion animale.

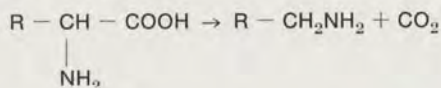


Si les réactions énumérées ci-dessus sont les sources de l'ammoniaque du sol, la dégradation des acides aminés et des substances voisines est compliquée par de nombreuses réactions latérales, qui peuvent fortement inhiber l'ammonification et par conséquent le cycle de l'azote.



C'est, par exemple, la prise des acides aminés résultant de l'hydrolyse des cadavres, par le protoplasme des bactéries ou des champignons. D'autre part, dans le sol, la formation d'humus consomme de l'azote, par combinaison de glucides avec des composés azotés.

Mais la plus importante des réactions latérales est la décarboxylation bactérienne, accomplie par des microorganismes du groupe *coli*, des *Clostridia*, etc. et des champignons.



Les amines formées sont basiques, elles sont toxiques pour les animaux, et elles sont résistantes à la décomposition bactérienne. Leur oxydation ne s'opère qu'en milieu alcalin, et elles se forment en milieu acide. De sorte que les bactéries qui forment les amines ne les oxydent pas.

B) LA SORTIE DU CARBONE

La sortie du carbone s'opère notamment par l'élimination du CO_2 formé dans le cycle des acides tricarboxyliques. L'équilibre entre cette

sortie et l'entrée due à la photosynthèse ne serait pas maintenu s'il n'y avait pas d'autres sorties de CO_2 .

La minéralisation bactérienne des cadavres contribue à combler le déficit.

1. Sortie du carbone des macromolécules glucidiques

a) Amidon

Les bactéries et les champignons ont des amylases α qui sont produites dans le milieu surtout par *Bac. subtilis*, *mesentericus*, *macerans* et *polymyxa*.

b) Pectines

Ce sont essentiellement, comme nous l'avons vu, des polymères méthylés d'acide D-galacturonique (polyuronides et non polysaccharides).

C'est surtout parmi les *Enterobacteriaceae* et les sporulants comme *Bac. macerans* et la plupart des *Clostridia* qu'on trouve les acteurs de l'attaque de la pectine.

La dégradation des pectines est un phénomène complexe et à plusieurs étapes.

1. Conversion de protopectine en pectine (c'est la macération du rouissage du lin). L'enzyme est la protopectinase, présente dans les *Aspergillus*, *Cl. felsineum*, etc.

2. Déméthylation de la pectine en acide pectique. L'enzyme est la pectase, qu'on trouve dans beaucoup de bactéries.

3. Hydrolyse de la liaison 1-4, brisant la macromolécule. L'enzyme qui agit dans cette étape est la pectinase, présente dans *Asp. oryzae*, *Rhizopus tritici*, etc.

c) Cellulose

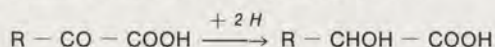
Comme la cellulose est le constituant majeur de la portion insoluble des végétaux, la vitesse de dégradation de la cellulose constitue un des éléments importants du cycle du carbone.

Il existe une série de microorganismes qui décomposent la cellulose : myxobactéries, *Clostridia*, actinomycètes, et de nombreux champignons. L'existence d'une cellulase soluble n'a pu être démontrée que dans quelques cas. Dans les autres, le processus de dégradation de la cellulose n'est pas élucidé.

2. Sortie du carbone des acides aminés

Les acides cétoniques résultant de la désamination oxydative des

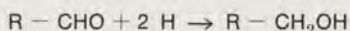
acides aminés libérés par l'action des protéases des microorganismes peuvent être directement réduits en hydroxyacides.



Les acides cétoniques peuvent aussi être décarboxylés pour donner l'aldéhyde avec perte d'un atome de carbone



L'aldéhyde peut être déshydrogéné en un acide ayant un atome de carbone de moins que l'acide aminé au départ ; ou encore l'aldéhyde peut être réduit en alcool



Mais la plupart des acides cétoniques sont oxydés par des microorganismes, avec formation de CO_2 . Le sol est formé de particules séparées par de l'eau ou par un mélange gazeux. Ce gaz contient plus de CO_2 que l'air atmosphérique. Lorsque l'aération est déficiente et en présence de beaucoup de matières organiques, les actions bactériennes ne produisent pas seulement du CO_2 mais aussi du méthane CH_4 . Le sol des rizières ne contient pratiquement pas d'oxygène mais on y trouve beaucoup d'hydrogène et de méthane.

III. LES CYCLES

A) CYCLE DU CARBONE

Au cours de la photosynthèse, du CO_2 est soustrait à l'atmosphère et à l'hydrosphère. Une partie de ce CO_2 est directement restituée au cours de la respiration végétale. Le restant est, pour sa plus grande partie, indirectement restitué par la respiration des animaux et au cours de la putréfaction des végétaux et des animaux. C'est là ce qu'on peut appeler le cycle biologique du carbone.

Le contenu en CO_2 de l'atmosphère ne varie pratiquement pas et cela est dû à l'amortissement des oscillations par le système $CaCO_3 - Ca(HCO_3)_2 - CO_2$ de l'océan. Si le chemin principal du cycle du carbone traverse la biosphère et l'océan, des carbonates sont constamment détournés sous forme de sédiments, et du carbone organique est arrêté dans ses transformations au sein des diverses formes de carbone fossile.

On peut calculer que depuis l'origine des sédimentations sous les deux formes, une quantité totale de CO_2 égale à douze fois celle de l'atmosphère, a été enlevée sous la forme de ces sédiments. C'est progressivement que cette soustraction s'est opérée, et elle a été compensée par du CO_2 d'origine volcanique.

L'autorégulation du cycle du carbone, maintenant la teneur en CO_2 de l'atmosphère à un niveau constant, dépend d'une part du système CO_2 -

bicarbonate-carbonate distribué dans l'air, dans les mers et dans les sédiments, et d'autre part de la photosynthèse, dont l'intensité dépend de la teneur en CO_2 du milieu.

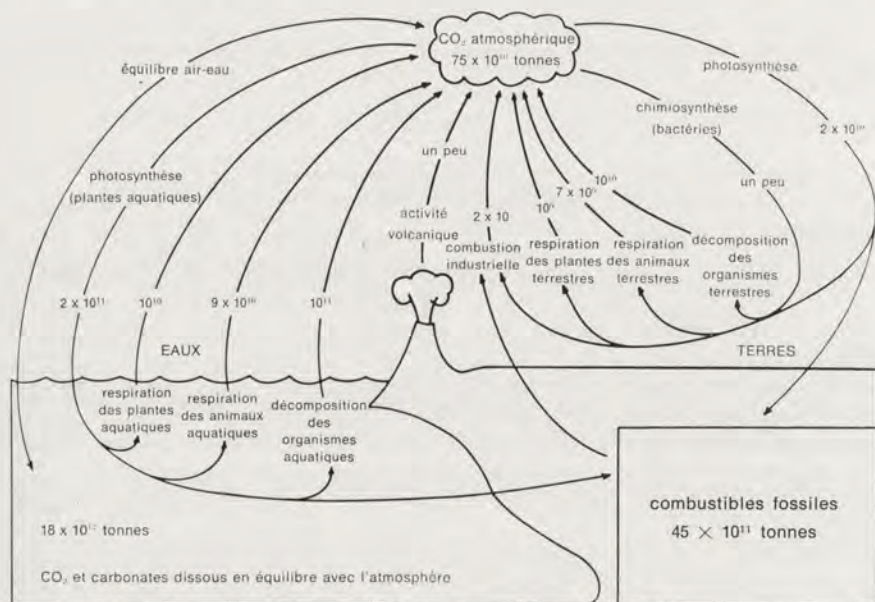


FIG. 19-4. Le cycle du carbone. Les valeurs totales de l'anhydride carbonique de l'atmosphère, ou de l'hydrosphère, et des combustibles fossiles sont indiquées en tonnes. Les valeurs indiquées sur les flèches correspondent au nombre de tonnes par an (d'après Milne et Milne).

Le cycle du carbone n'exige nullement l'intervention des animaux et des plantes. Il peut se dérouler par la seule intervention des microorganismes, et avec une intensité particulière dans les océans où se déroule une photosynthèse huit fois plus importante que celle accomplie par les végétaux terrestres. Cette photosynthèse marine est le résultat de la présence des diatomées et des dinoflagellates du phytoplancton. La figure 19-5 montre un cycle uniquement microbiologique du carbone.

B) CYCLE DE L'AZOTE

Ce cycle a pour étapes principales la fixation des nitrates ou de l'azote par les végétaux et certains microorganismes, la minéralisation des protéines avec formation d'ammoniaque et le passage de cette ammoniaque à l'état de nitrates. La figure 19-6 montre les étapes de ce cycle, tandis que la figure 19-7 indique la nature des microorganismes intervenant dans son déroulement.

Dans le cas d'une population bactérienne hétérogène, le cycle peut se dérouler sans l'intervention des animaux, et même sans celle des plantes, comme la figure 19-8 le montre.

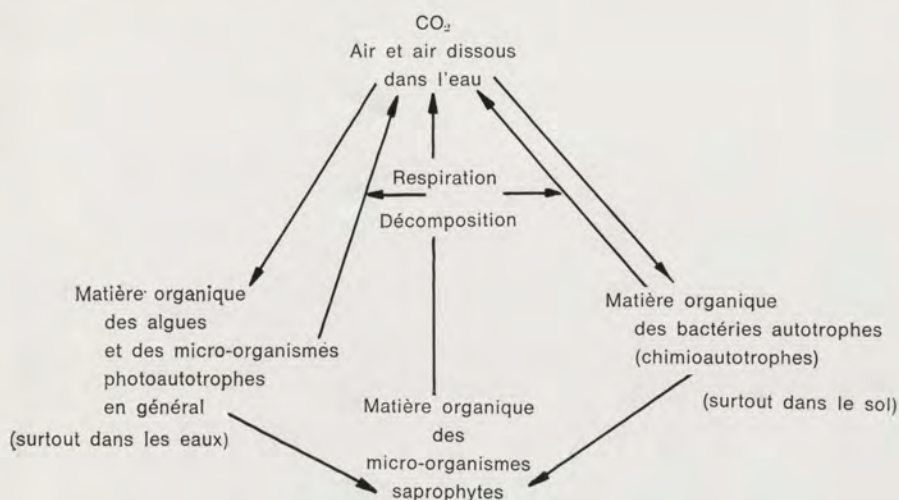


FIG. 19-5. Un cycle microbiologique du carbone (d'après Butlin et Postgate).

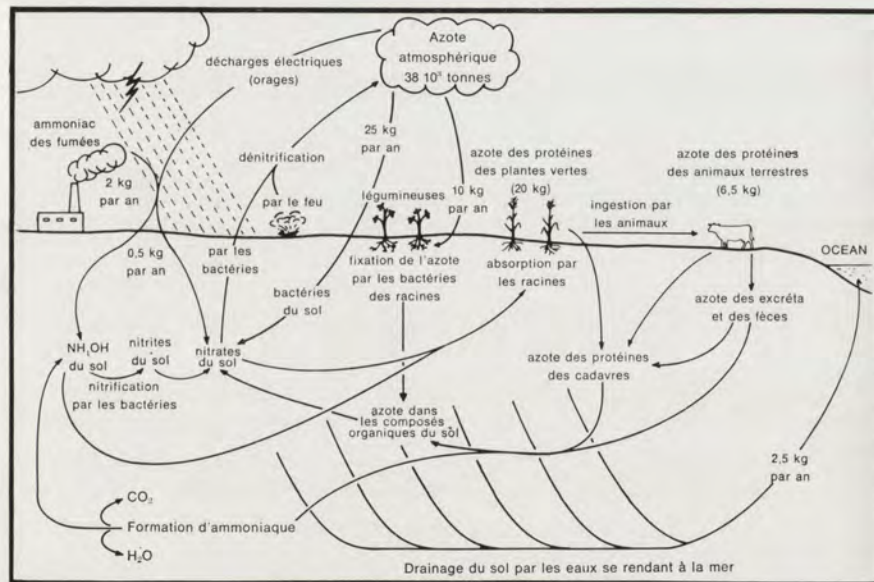


FIG. 19-6. Le diagramme est relatif à un acre (40 ares et demi) de terre cultivée et illustre la difficulté que rencontre la biosphère dans le prélèvement de l'azote à partir de l'immense réserve atmosphérique. Le diagramme illustre aussi la part essentielle que jouent les bactéries fixatrices d'azote dans le contrôle de la production d'un sol (d'après Milne et Milne).

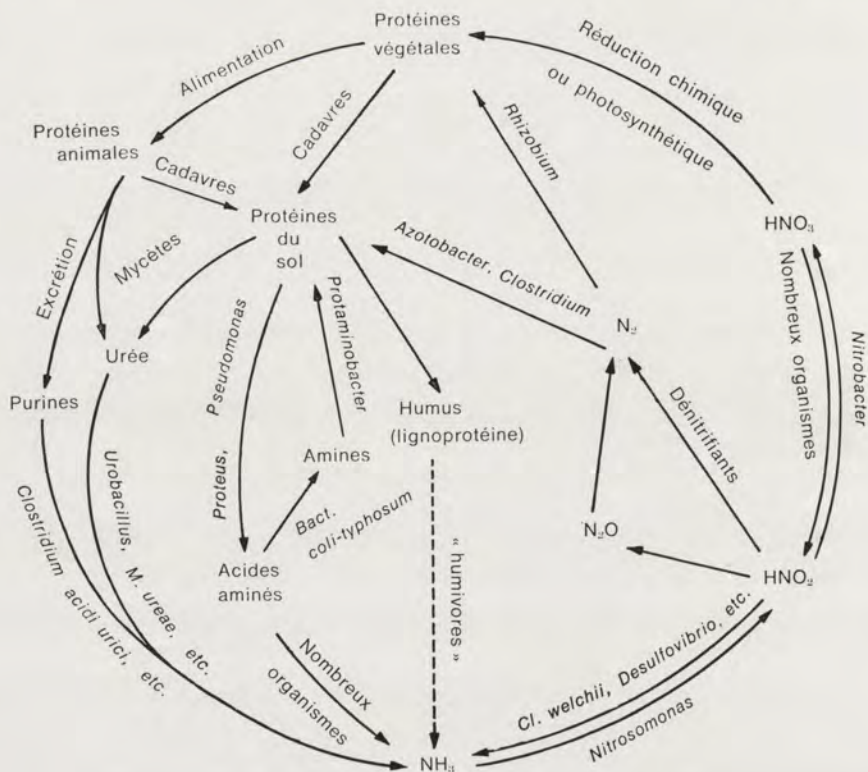


FIG. 19-7. Le cycle de l'azote dans la biosphère, avec l'indication des microorganismes qui prennent part au déroulement du cycle (d'après Thiman).

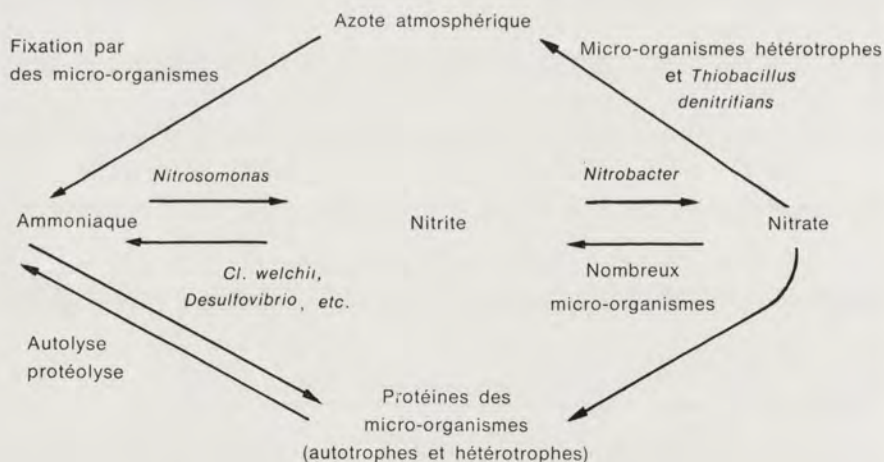


FIG. 19-8. Cycle microbien de l'azote.

C) CYCLE DU SOUFRE

Il présente des analogies avec le cycle de l'azote. Comme les nitrates, les sulfates sont utilisés et réduits par les végétaux. Dans cette forme réduite (groupes $-SH$) le soufre, comme l'azote dans sa forme réduite que

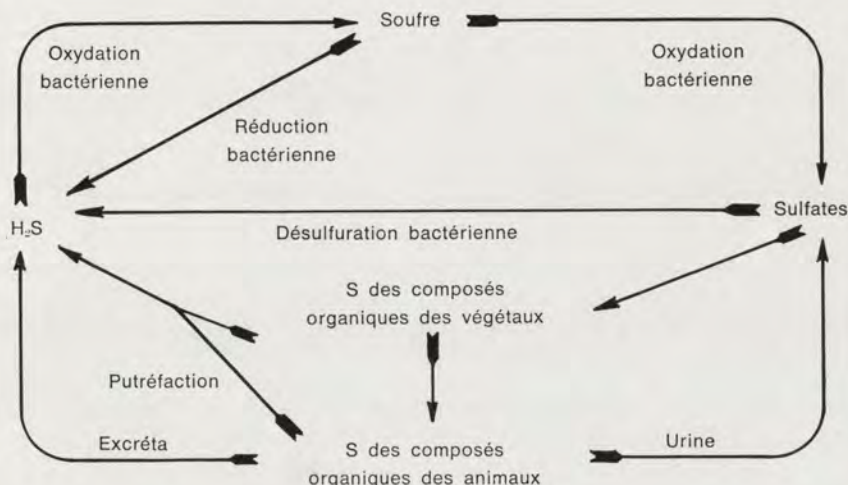


FIG. 19-9. Le cycle du soufre dans la biosphère.

constituent les groupements aminés des acides aminés par opposition avec la forme oxydée des nitrates, prend part à la construction des protéines végétales, avec lesquelles il pénètre dans les organismes animaux. Une partie de ce soufre reparaît sous la forme oxydée dans l'urine des animaux (dérivés d'acide sulfurique). Lors de la putréfaction des tissus animaux ou végétaux, le soufre est libéré à l'état de H_2S par beaucoup de bactéries aérobies et anaérobies (formation analogue à la désamination avec production d' NH_3). Une partie du H_2S naturel provient, d'autre part, de la désulfuration des sulfates par des processus bactériens.

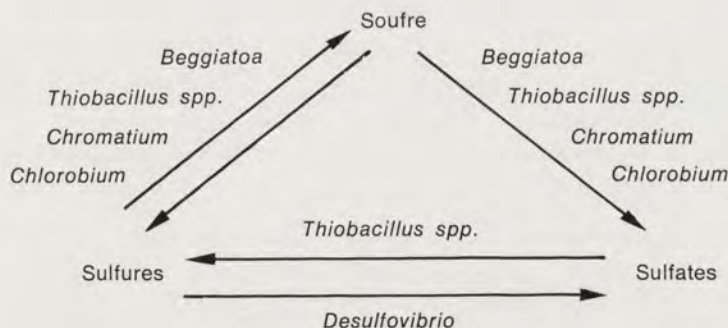


FIG. 19-10. Un cycle microbien du soufre (d'après Butlin et Postgate).

D'autres bactéries peuvent réduire le soufre élémentaire en H_2S .

L'inverse de la réduction des sulfates, et le correspondant de la nitrification, est la transformation par des bactéries, de H_2S et de S élémentaire en H_2SO_4 .

Comme dans le cas du cycle de l'azote, les animaux et les végétaux ne sont pas indispensables au déroulement d'un cycle du soufre. Dans la nature, on rencontre parfois ce cycle assuré par une association microbiologique, faite de bactéries autotrophes, d'algues et de protozoaires, communauté à laquelle on donne le nom de *sulphuretum* et qu'on observe dans des argiles, dans des boues ou dans des eaux stagnantes. La figure 19-10 montre un cycle bactérien du soufre.

D) CIRCULATION DU PHOSPHORE

La circulation de cet élément nécessaire à la vie s'accomplit actuellement exclusivement par l'intermédiaire des stades d'oxydation et d'hydratation les plus élevés du phosphore. L'acide orthophosphorique, originaire du monde inorganique, ne subit dans sa traversée du monde vivant aucune modification chimique, mais uniquement des combinaisons sous forme de sels ou d'esters (phosphate de Ca des os, phosphatides, nucléoprotéines, esters phosphoriques des oses, etc.).

La mobilisation de l'acide phosphorique des composés inorganiques est nécessaire à son introduction dans les êtres vivants. Cette mobilisation est rendue possible par la libération de différents acides forts par de nombreux microorganismes aérobies ou anaérobies du sol. Le CO_2 libéré par les racines des végétaux et par différentes bactéries y joue aussi un rôle. Solubilisés, les phosphates peuvent être reprécipités, ou assimilés par les végétaux pour passer ensuite aux animaux sous forme de combinaisons organiques ou inorganiques. Les excréments des animaux et les cadavres des animaux et des végétaux ramènent au sol les phosphates qui lui avaient été enlevés. Ils peuvent amener l'accumulation locale de dépôts de phosphates, qu'on utilise comme engrais.

Un remarquable aspect du métabolisme du phosphore dans la biosphère est l'accroissement de concentration en phosphates dans les couches de plus en plus profondes des océans. On doit admettre que le phosphore des océans passe progressivement dans les sédiments profonds et on peut calculer que la totalité du phosphore a été plusieurs fois soustraite aux eaux océaniques, et remplacée aux dépens de la lithosphère, par l'apport des rivières. Le retour de phosphore aux continents est fortement en déficit par rapport à la soustraction, car ce retour ne s'opère que grâce au prélèvement d'aliments dans l'océan par les animaux, et surtout par l'homme et les oiseaux. Les pêcheries du monde ramènent ainsi environ 60 000 tonnes de phosphore (25 à 30 millions de tonnes de poisson). Les oiseaux marins ramènent environ dix fois plus de phosphore à la terre.

Entre les 137×10^5 tonnes de phosphore qui sont introduits par an dans l'océan à partir des continents et la quantité ramenée par l'alimentation animale d'origine marine, se marque donc un important déficit, dont le résultat est une accumulation constante dans les profondeurs marines, de phosphore devenu inutilisable pour la vie terrestre.

E) MÉTABOLISME DE LA BIOSPHERE

Les cycles qui viennent d'être décrits, traduisant en ce qui concerne les principaux éléments, les entrées, du monde inorganique à la biosphère, et les sorties, de la biosphère au monde inorganique, s'intègrent dans le métabolisme de la biosphère, et sont les facteurs de la régulation de sa masse et de sa distribution. Chaque secteur de la biosphère, composé d'une communauté d'organismes, est en unité fonctionnelle avec le milieu que cette communauté occupe et la considération de la physiologie du milieu est aussi importante que la biochimie de la biosphère lorsqu'il s'agit d'interpréter la dynamique de ce qu'on appelle un écosystème, fait d'une communauté d'organismes et du milieu qu'elle habite.

Du point de vue biochimique, les organismes composant un écosystème appartiennent, au maximum à quatre catégories : producteurs, consommateurs, décomposants, transformateurs. Dans le milieu terrestre, par exemple, dans un sol, les producteurs sont principalement les plantes vertes, mais les bactéries autotrophes interviennent aussi. Les consommateurs sont tous les hétérotrophes, c'est-à-dire les herbivores qui consomment les plantes vertes (insectes, rongeurs, ruminants, etc.), les carnivores primaires qui mangent les herbivores, les carnivores secondaires qui consomment les carnivores primaires, etc. Les parasites sont aussi des consommateurs. Les décomposants sont ceux qui attaquent les cadavres des producteurs et des consommateurs et ramènent la substance de ces cadavres à l'état de CO_2 , d'ammoniaque, d' H_2S , etc. Ce sont des bactéries et des champignons. Les transformateurs modifient les substances inorganiques résultant de l'activité des décomposants et les transforment en substances utilisables par les producteurs : nitrates et sulfates, par exemple.

Il apparaît donc que l'écosystème peut très bien subsister s'il est composé de producteurs, de décomposants et de transformateurs. Les consommateurs, y compris l'homme, ne forment qu'un intermédiaire non essentiel dans le métabolisme d'un écosystème.

Les composants des écosystèmes marins diffèrent de ceux des écosystèmes terrestres. Dans les régions libres de l'océan, par exemple, les producteurs sont principalement les organismes du plancton végétal, surtout les diatomées, formant ce qu'on a pu nommer le pâturage océanique. L'abondance de sa croissance dépend de conditions saisonnières. La photosynthèse du plancton ne s'exerce que dans les régions atteintes par la lumière. Elle exige d'autre part la présence non seulement de CO_2 , mais aussi de nitrates, de sulfates et de phosphates. L'hiver, saison de l'agitation et du brassage des eaux marines, ramène ces sels en surface et une croissance rapide peut se dérouler dès que le nombre des heures d'insolation augmente. Mais les sels inorganiques sont progressivement utilisés et les consommateurs herbivores, surtout les copépodes, broutent le pâturage marin et l'épuisent. Pendant l'été, par suite de la stratification thermique et parce que les cadavres s'enfoncent dans des régions plus profondes, la situation reste stationnaire. Dès que vient l'automne, la température superficielle s'abaisse et l'agitation augmente : le milieu superficiel est regarni en aliments inorganiques et il se produit une nouvelle poussée de phytoplancton, bientôt arrêtée par la consommation et par l'abaissement de température et d'éclairement. L'hiver accomplit le grand brassage qui équivaut, dans la mer, à ce que représente le labourage dans le sol.

Nous avons déjà cité les copépodes, parmi les consommateurs marins herbivores. Ils ne sont pas les seuls : beaucoup de mollusques et même certains poissons appartiennent à la même catégorie. Mais les consommateurs herbivores sont moins abondants que dans le milieu terrestre, et ils sont presque toujours de petite taille (copépodes, etc.). Ces petits herbivores sont consommés par de nombreux animaux marins et notamment par la baleine. Mais la plupart des carnivores marins dépendent de la consommation d'animaux de taille plus grande. Les décomposants et les transformateurs du milieu marin sont, comme c'est le cas dans le milieu terrestre, des microorganismes.

Considérée comme un tout, la biosphère se nourrit essentiellement de CO_2 , d'azote, d'eau, de sulfates, de nitrates et de phosphates. La majeure partie de l'énergie qui pénètre en elle est constituée par de l'énergie d'origine solaire.

Un important aspect du métabolisme de la biosphère est la topographie de sa distribution. Dans le milieu terrestre, les produits de l'activité des dégradants peuvent être retenus dans le sol, mais il y a toujours une perte, qui peut devenir considérable dans les sols acides et lors des pluies excessives. Dans le milieu aquatique marin, les cadavres finissent par s'enfoncer dans la profondeur et les courants peuvent les déplacer, de sorte que les produits de transformation peuvent être situés en des lieux éloignés des lieux de la biosynthèse des macromolécules dont ils sont dérivés. Dans les profondeurs de l'océan, les phosphates et les nitrates peuvent être déposés en des lieux très éloignés des lieux de la photosynthèse. Toutefois, les courants verticaux peuvent les ramener à la surface. S'il est vrai que dans le cours d'une année le déplacement vers le bas et le déplacement vers le haut s'équilibrent sans doute approximativement, des sels minéraux sont constamment apportés par les affluents à la mer et une quantité considérable s'accumule dans les fonds marins et est ainsi inexorablement enlevée au milieu terrestre.

D'autre part, la restitution à l'inorganique de ce que la biosphère avait prélevé par assimilation peut se trouver bloquée dans des arrêts du mécanisme de minéralisation. L'humus du sol constitue un de ces arrêts, et il est bienfaisant par son influence sur les conditions physiques du milieu. Mais la tourbe, le lignite et le charbon constituent les témoins d'un long arrêt dans le cycle du carbone, en certains lieux. Les calcaires, les coraux, etc., sont d'autres lieux de stagnation du même cycle. Un autre exemple est l'accumulation de guano dans certaines îles péruviennes. Sans doute l'azote de l'atmosphère est-il une source inépuisable, mais le CO_2 de l'air ne l'est pas. Déjà dans la situation d'équilibre que connaît la biosphère actuelle, la faible teneur de l'atmosphère en CO_2 est dans les conditions de bon éclaircissement un facteur limitant de l'intensité de la photosynthèse, qui serait beaucoup plus active si la teneur de l'atmosphère en CO_2 était plus grande.

La faible teneur de l'atmosphère en CO_2 est le résultat de l'équilibre des producteurs et des consommateurs. Si cette faible quantité de CO_2 n'était plus présente, la vie s'arrêterait.

Quant au phosphore, il ne peut être libéré que lentement à partir des roches et des dépôts marins. Sa source rapidement utilisable est fournie par la décomposition des organismes. Il représente le point faible du métabolisme de la biosphère. La soustraction croissante du phosphore du

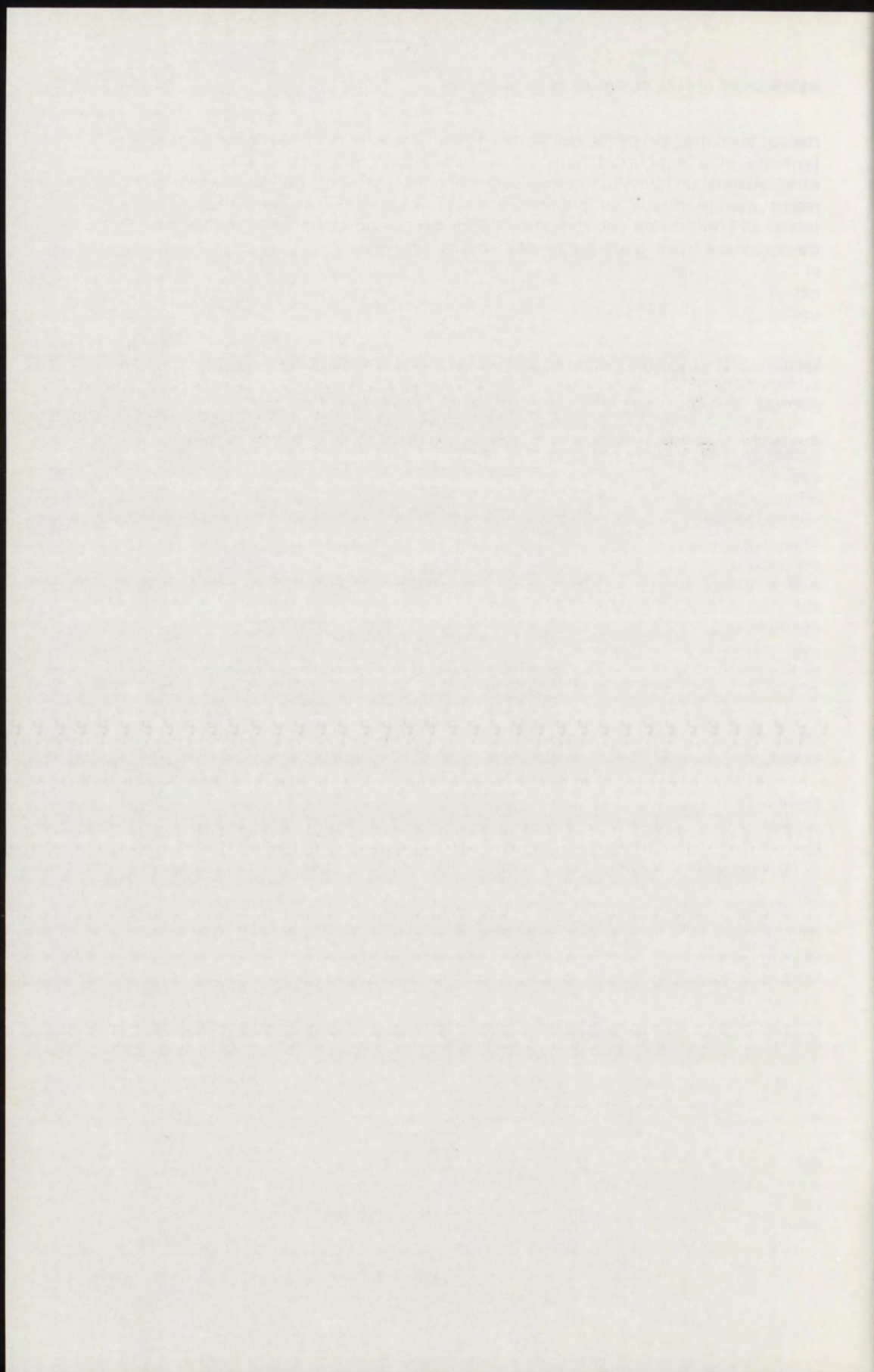
milieu terrestre au profit du milieu marin est une menace pour la vie terrestre et elle pourrait faire de la colonisation des continents par les êtres vivants un simple intermède entre deux périodes de vie marine, à moins que le retour du phosphore de l'océan au milieu terrestre dans lequel vit l'homme ne soit fortement accru par lui, au cours de la réalisation de son vieux rêve d'utilisation des ressources marines.

A CONSULTER

MILNE, L. J. et MILNE, M. J., *The biotic world and man*. 2^e édit. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1961.

STEWART, W. D. P., *Nitrogen fixation in plants*. Athlone Press, Univ. of London, 1966.

Comparative biochemistry (Publié sous la direction de M. Florkin et H. S. Mason). Vol. 1, 2 (1960), 5 (1963). Academic Press, New York, 1963.



INDEX ALPHABÉTIQUE DES MATIÈRES

A

- Acétaldéhyde, 414
 - glycolyse, 280
- Acétoacétyl-CoA
 - (voir Acétoacétyl-coenzyme A)
- Acétoacétyl-coenzyme A, 314, 397
 - synthèse, 456
- Acétone, **229**, 428
- Acétylcholine
 - hydrolyse, 170
 - potentiel d'action, 270
 - synthèse, 209
- Acétyl-CoA
 - (voir Acétyl-coenzyme A)
- Acétyl-coenzyme A, **205**, 456
 - catabolisme des acides aminés, 393
 - couplage, 209
 - cycle de l'ac. citrique, 299, 302
 - origine, 300
 - potentiel chimique, 205
- 6-S-acétylhydroliopate, 389
- Acétyl-imidazole, **206**
 - potentiel chimique, 206
- N- α -acétylornithine, **406**
- Acétyl-phosphate, **201**, 428
 - couplage, 201
- Acide
 - définition, 114
 - dissociation, 116
- Ac. acétique
 - activation, 301, 456
 - sort des carbones, **309**
- Ac. acétoacétique, **229**, 393, 401
 - et réduction dans la mitochondrie, 337
- Ac. α -acéto- α -hydroxybutyrique, 414
- Ac. α -acétolactique, 414
- Ac. N-acétylglutamique, **406**
- Ac. *cis*-aconitique
 - cycle ac. citrique, **299**, 303
- Ac. acrylique, **224**
- Ac. adénylique, 69
 - synthèse, **441** (fig.)
- Ac. 3', 5'-adénylique, **284**
- Ac. adénylosuccinique
 - synthèse, **441** (fig.)
- Acides aminés, 107
 - définition, 107
 - essentiels, non essentiels, 371
 - formol-titration, 113
 - ionisation, 114
 - naturels, 108-110 (tableau)
 - occasionnels, 111
 - et produit final, 391 (tableau)
 - propriétés, 112
 - stéréoisomérisation, 112
 - synthèse, 405
 - titration, 121
 - voies métaboliques, 391, 404 (schéma)
- Ac. α -aminoadipique, 397, **418**
- Ac. p-aminobenzoïque, 416
- Ac. α -aminobutyrique, **412**, 414
- Ac. γ -aminobutyrique, **387**
- Ac. α -amino-carbamidovalérique
 - (voir Citrulline)
- Ac. α -amino- β -cétoadipique, **423**
- Ac. δ -aminolévulinique, **423**
- Ac. β -aminopropionique
 - (voir β -Alanine)
- Ac. N⁵, N¹⁰-anhydroformyltétrahydrofolique, **432**
- Ac. anthranilique, **402**, 416, 468
- Ac. arginosuccinique, **406**
- Ac. L-ascorbique
 - cycle de l'ac. glucuronique, **292**
 - et métabolisme du glucose, 293
- Ac. L-aspartique, **108**, 406, 412, 418
 - catabolisme, 391
 - décarboxylation, 387
 - synthèse, 405
 - titration, 124
- Ac. barbiturique, **62**
 - énergie de résonance, 64 (tableau)

- Ac. benzoïque, 113
- Ac. benzoylformique, 229
- Ac. biliaires, 455
- Ac. caféique, 465, 466
- Ac. carbamylaspartique
synthèse pyrimidines, 442
- Ac. α -cétoadipique, 397, 418
- Ac. α -céto- ϵ -aminocaproïque, 397
- Ac. α -cétobutyrique, 398, 410, 414
- Ac. α -cétoglutarique, 229, 418
cycle ac. citrique, 299, 304
- Ac. 3-céto-L-gulonique
cycle de l'ac. glucuronique, 292
- Ac. α -cétoisocaproïque, 393, 414
- Ac. α -cétoisovalérique, 392, 414, 438
- Ac. α -céto- β -méthylvalérique, 393, 414
- Ac. cétopantoïque, 438
- Ac. cholique
(voir Ac. biliaires)
- Ac. chondroïtine-sulfurique, 106
- Ac. cinnamique, 465, 466
- Ac. citrique
cycle, 299, 302
cycle, contrôle, 338, 339
cycle, convergence avec autres voies métaboliques, 308 (fig.)
cycle, formation d'ATP, 331-332 (tableau)
fixation sur enzyme, 302
- Ac. p-coumarique, 465, 466
- Ac. cynurénique, 402
- Ac. cystéine sulfinique, 396
- Ac. L-cystéique
décarboxylation, 387, 396
- Ac. cytidylique, 69
- Ac. L-déhydroascorbique
métabolisme du glucose, 293
- Ac. Δ^1 -déhydropipécolique, 397
- Ac. Δ^6 -déhydropipécolique, 397
- Ac. 5-déhydroquinique, 416, 465
- Ac. 5-déhydroshikimique, 416
- Ac. désoxyribonucléiques, 149
(DNA)
liaisons hydrogène, 151
rôle génétique, 479
structure hélicoïdale, 150, 476
synthèse, 478
virus, 496, 499
- Ac. α , ϵ -diamino- δ -hydrocaproïque
(voir Hydroxyllysine)
- Ac. L, L-diaminopimélique, 418
- Ac. α , δ -diamino-valérique
(voir Ornithine)
- Ac. L-dicétogulonique
métabolisme du glucose, 293
- Ac. dihydrooorotique, 176
rôle catalytique, 176
synthèse pyrimidines, 442
- Ac. α , β -dihydroxyisovalérique, 414
- Ac. α , β -dihydroxy- β -méthylvalérique, 414
- Ac. 1,3-diphosphoglycérique, 201
couplage, 202
glycolyse, 278
- Ac. énoypyruvique, 202
glycolyse, 279
- Ac. férulique, 465
- Ac. folique, 67
(ac. ptéroylglutamique)
rôle catalytique, 178
synthèse, 438
- Ac. formiminoglutamique, 399
- Ac. formique, 224, 409, 428
- Ac. fumarique, 227, 401, 406, 430
cycle ac. citrique, 299, 306
- Ac. fumarylacétoacétique, 401
- Ac. gallique, 465
- Ac. gluconique, 94
- Ac. glucuronique, 94, 104, 228
cycle, 292
métabolisme du glucose, 293
- Ac. L-glutamique, 109, 399, 406, 407
catabolisme, 391
décarboxylation, 387
synthèse, 405
et synthèse des alcaloïdes, 469
- Ac. glycérique, 408
- Ac. α -glycérophosphorique, 256
- Acides gras
activation, 310
biosynthèse, 255
définition, 223
mitochondrie, biosynthèse, 341
oxydation, 310
 ω -oxydation, 313
saturés, 225 (tableau)
et synthèse ATP, 334
- Ac. guanylique, 69
synthèse, 441 (fig.)
- Ac. L-gulonique
cycle de l'ac. glucuronique, 292
métabolisme du glucose, 293
- Ac. hexonique, 94
- Ac. hippurique, 113
excrétion urinaire, 8
synthèse, 437
- Ac. hyaluronique, 105
- Ac. hydantoïne-5-propionique, 399
- Ac. 3-hydroxyanthranilique, 402

- Ac. p-hydroxybenzoïque, 416
- Ac. hydroxybutyrique
et réduction dans la mitochondrie, 337
- Ac. β -hydroxyisobutyrique, 392
- Ac. p-hydroxyphénylpyruvique, 401
- Ac. hydroxypyruvique, 408
- Ac. 8-hydroxyquinaldique, 402
- Ac. imidazolonepropionique, 399
- Ac. imidazylacétique, 399
- Ac. imidazylpyruvique, 399
- Ac. inosinique
synthèse, 441 (fig.)
- Ac. iséthionique, 396
- Ac. isocitrique
cycle ac. citrique, 299, 303
- Ac. lactique, 280
glycolyse, 280
- Ac. lipoïque
(voir Ac. thioctique)
- Ac. L- α -lysophosphatidique, 257
- Ac. L-lyxonique
et métabolisme du glucose, 293
- Ac. maléique, 227
- Ac. 4-maléylacétoacétique, 401
- Ac. L-malique, 390, 430
cycle ac. citrique, 299, 306
- Ac. malonique, 62
- Ac. méso-diaminopimélique, 418
- Ac. N⁵, N¹⁰-méthylènetétrahydrofolique, 432
- Ac. mévalonique
et stéroïdes, 463
synthèse, 457
- Ac. mucoïtinesulfurique, 106
- Ac. nicotinique, 60, 402, 469
- Ac. nucléiques
indices énergétiques, 64 (tableau)
- Ac. orotidylique
synthèse pyrimidines, 442
- Ac. orotique, 176
énergie de résonance, 64
rôle catalytique, 176
synthèse pyrimidines, 442
- Ac. oxaloacétique, 229, 390, 430
cycle ac. citrique, 299, 302, 306
- Ac. oxalosuccinique, 229
cycle ac. citrique, 299, 304
- Ac. palmitique, 231
- Ac. pantoïque, 438
- Ac. pantothénique, 74, 128
synthèse, 438
- Ac. pectique, 104
- Ac. phénylacétique
excrétion, 8
- Ac. phényllactique, 401
- Ac. phénylpyruvique, 401, 416, 465
idiotie, 411
- Ac. L- α -phosphatidique, 256
- Ac. 2-phosphoénolpyruvique, 202
couplage, 202
glycolyse, 279
- Ac. 6-phosphogluconique
cycle des pentoses, 287, 288
- Ac. 2-phosphoglycérique
glycolyse, 279
- Ac. 3-phosphoglycérique, 202, 408, 430
cycle des pentoses, 287
glycolyse, 278
et photosynthèse, 366
- Ac. 3-phosphohydroxypyruvique, 408
- Ac. 5-phosphoshikimique, 416
- Ac. picolinique, 402
- Ac. pipécolique, 111, 397
- Ac. préphénique, 416, 465, 466
- Ac. ptéroylglutamique
(voir Ac. folique)
- Ac. Δ^1 -pyrroline-5-carboxylique, 407
- Ac. pyruvique, 202, 229, 414, 428
fixation CO₂, 430
glycolyse, 279
- Ac. quinaldique, 402
- Ac. quinique, 416
- Ac. quinolinique, 402
- Ac. ribonucléiques, 148
(RNA)
différents types, 483
nucléotides, 482
nucléotides rares, 486
structure, 481
synthèse, 483
et synthèse des protéines, 487
virus, 493
- Ac. saccharique, 94
- Ac. shikimique, 416
et dérivés aromatiques, 465
- Ac. stéarique, 231
- Ac. succinique, 226, 430
cycle ac. citrique, 299, 305
cycle glycolyse, 395
- Ac. N-succinyl- α -amino- ϵ -cétopimélique, 418
- Ac. N-succinyl-L- α , ϵ -diaminopimélique, 418
- Ac. β -sulfinylpyruvique, 396
- Ac. tétrahydrofolique, 431

- Ac. thioctique, **56**
et décarboxylation, 389
- Ac. thymidylique, **69**
- Ar. tricarboxyliques, cycle
(voir Ac. citrique, cycle)
- Ac. uridylique, **69**
synthèse pyrimidines, **442**
- Ac. urique
énergie de résonance, **64** (tableau)
- Ac. urocanique, **399**
désamination histidine, **542**
- Ac. uronique, **94**
- Ac. xanthurénique, **402**
- Ac. xanthylque
synthèse, **441** (fig.)
- Acraldéhyde, **224**
- Acridines, **468**
- Acroléine
(voir Acraldéhyde)
- Actine
contraction, **518**
- Activité
coefficient d'—, **27**
définition, **27**
- Activité spécifique
(voir Isotopes)
- Adénine, **63, 70**
(4-aminopurine)
énergie de résonance, **64** (tableau)
phoo, pboi, **64** (tableau)
- Adénosine, **68**
synthèse, **443**
- Adénosine-diphosphate, **70**
- Adénosine-monophosphate, **70**
- Adénosine-3'-phosphate-5'-pyrophosphate, **74**
- Adénosine-triphosphate, **70**
et contrôle métabolisme, **337**
couplage, **200**
synthèse, **332, 333**
- S-adénosylméthionine, **206, 433**
- ADP
(voir Adénosine-diphosphate)
- Aetiocholane, **456**
- Agmatine, **387** (tableau)
- β-Alanine, **111, 387** (tableau)
- L-alanine, **108, 402**
catabolisme, **392**
sRNA spécifique, **485**
synthèse, **405**
- Alanylalanine, **126**
- Albumines, **134**
- Alcaloïdes
hétérocycliques, **470**
synthèse, **468** (fig.)
- Alcaptonurie
(voir Ac. homogentisique)
- Alcool allylique, **224**
- Aldéhyde glycolique, **83**
- Aldoses, **83, 84-85** (tableau)
produits d'oxydation, **93, 94**
- Algues bleues
(voir Myxophycées)
- D-allothréonine, **112**
- L-allothréonine, **112**
- Alloxazine, **65**
- Amides, **113**
et transamination, **384**
- 5-Aminoimidazol-4-carboxamide
ribonucléotide, **417**
- Amidon, **100**
grains, **101**
photosynthèse, **366**
- Amines
et décarboxylation des
acides aminés, **387** (tableau)
- Aminoéthanol
(voir Ethanolamine)
- o-Aminophénol, **402**
- Aminoxydases, **377**
- Ammoniaque
entrée dans les composés organiques, **375**
et glutamine, **379**
production, **381**
- AMP
(voir Adénosine-monophosphate)
- Amylopectine, **100, 102**
synthèse, **437**
- Amylose, **100, 102**
- Anabaena, **539**
- Anabasine, **469**
- Anabolisme
définition, **19**
organisme entier, **8**
primaire et secondaire, **427** (schéma)
- Anhydride succinique, **226**
- Ansérine, **127, 128**
- Anthéranthine, **449**
- Anthocyanidines, **467**
- Antibiotiques, **128**
synthèse, **464**
- Aphanine (?), **449**
- Apomorphine, **468**
- L-Arginine, **108, 406**
et ammonification dans le sol, **543**
catabolisme, **394**
décarboxylation, **387** (tableau)
synthèse, **405**

Arylisocoumarines, 467
 Asparagine, 379, 412
 synthèse, 405
 β -Aspartyl-phosphate, 412, 418
Aspergillus oryzae, 544
 Astacine, 451
 Astaxanthine, 451
Athiorhodacées, 367
 Atmosphère
 définition, 1
 ATP
 (voir Adénosine-triphosphate)
 Atropine, 469
 Aurones, 467
 Auroxanthine, 450
 Autotrophes
 chimiosynthétiques, 534
 photosynthétiques, 354
 Azafrine, 451
 Azote
 cycle de la biosphère, 546
 entrée dans la biosphère, 536
 équilibre azoté, 8
 sortie de la biosphère, 541
Azotobacter, 540, 548

B

Bacillus macerans, 544
Bacillus mesentericus, 544
Bacillus mycoides, 541
Bacillus polymyxa, 544
Bacillus subtilis, 542, 544
 Bactéries brunes, 365
 Bactéries pourpres, 365, 539
 Bactéries vertes, 365
 Baikiaine, 111
 Base
 définition, 116
 dissociation, 119
 Benzaldéhyde, 229
 Benzène, 37
 et énergie de résonance, 37
 Benzopyrylium, 59
 Benzoquinone, 39
 Bétaine, 433
 Biosphère
 composition, 4
 cycles, 545
 définition, 3
 source d'énergie, 353

Biosynthèses
 acides aminés, 405
 coenzymes, 438, 444
 liaisons amidiques, 437
 liaisons osidiques, 435
 liaisons peptidiques, 437
 matériaux des —, 428, 470 (fig.)
 méthyle, 431
 nucléosides et nucléotides, 443
 oses, 434
 pentose-phosphates, 434
 polysaccharides, 435
 purines, 441 (fig.)
 pyrimidines, 442
 ramifications, 471 (fig.)
 voies principales, 472 (fig.)
 Biotine
 synthèse, 439
 Biuret, 126
 Bixine, 451
 Boltzman
 constante de, 25

C

C_1 (unité)
 métabolisme, 428
 Calorimétrie, 20
 Capsanthine, 450
 Capsorubine, 450
 Carbamyl-phosphate, 406
 cycle de l'urée, 527
 synthèse, 407
 synthèse pyrimidines, 442
 Carbone
 autotrophes
 chimiosynthétiques, 534
 photosynthétiques, 354
 cycle de la biosphère, 545
 sortie de la biosphère, 544
 Carnitine, 312
 Carnosine, 127, 128
 α -Carotène, 448
 β -Carotène, 447
 γ -Carotène, 447
 Caroténoïdes
 classification, 446
 structure, 446
 synthèse, 458
 α -Carotinépoxyde, 448
 Catabolisme
 définition, 19
 organisme entier, 8
 Catéchines, 467
 Cellobiose, 96

- Cellule
 état stationnaire, 217
 organisation, 215
 organites, 218
 théorie cellulaire, 211
- Cellulose, 99
- Céphalines, 235
 (phosphatidyléthanolamines)
 biosynthèse, 258
- Cérébrosides, 237
 biosynthèse, 260
- Cérides, 233
- 2-Céto-L-gulonolactone
 cycle de l'ac. glucuronique, 292
- Cétoses, 83, 87 (tableau)
- Chaîne respiratoire, 314
 constituants principaux, 327 (tableau)
 enzymes, concentrations, 316 (tableau)
 nombre d'électrons transférés, 335
 phosphorylations, 328
 énergie d'oxydo-réduction, 331, 334
 inhibition, 329
 renversement, 330
 potentiel d'oxydo-réduction, 198 (tableau)
 reconstitution, 328
 rôle hydroxybutyrate, 337
 séquence fonctionnelle, 317 (fig.)
 spectre différentiel, 315 (fig.)
- Chalcones, 466, 467
- Charge électrique
 (voir Indices de structure)
- Chitine
 (voir Polyglucosamines)
- Chitobiose, 105
- Chlorella*, 543
- Chlorobactériacées*, 367
- Chlorophylle a, 359
- Chlorophylle b, 359
- Chloroplaste
 définition, 355
- Chlorpromazine
 phoo, 54
- Chlorure d'œnine, 59
- Cholestane, 454
- Cholestérol, 454
 synthèse, 461
- Choline, 234, 433
- Chroman, 57
- Chrysanthémoxanthine
 (voir Flavoxanthine)
- Cinchonamine, 468
- β -Citaurine, 451
- Citroxanthine, 448
- Citrulline, 111, 406
 et ammonification dans le sol, 543
 et cycle de l'urée, 527
- Clostridium*, 539, 540, 548
- Clostridium acidi urici*, 548
- Clostridium pasteurianum*, 539
- Clostridium welchii*, 548
- CoA
 (voir Coenzyme A)
- Cocaïne, 469
- Code génétique, 488
- Codon, 484, 488
- Coenzymes, 158
 orbitales moléculaires, 174 (tableau)
 rôle dans la catalyse, 171
 et transfert d'électrons, 172
 et transfert de groupes, 177
- Coenzyme A, 74
 rôle catalytique, 178
 synthèse, 444
- Coenzyme Q
 (voir Ubiquinone)
- Colamine
 (voir Ethanolamine)
- Collagène, 503
 composition en ac. aminés, 504
- Configuration électronique
 de certains éléments, 33 (tableau)
 définition, 33
- Coniine, 469
- Continuum biochimique, 1
 définition, 5
- Coproporphyrine, 50, 51
 I, 421
 III, 420
- Coproporphyrinogène
 I, 421
 III, 420
- Cori, ester de
 (voir Glucose-1-P)
- Corps cétoniques
 formation et oxydation, 314
- Corynanthine, 468
- Couche électronique, 32
 gaz nobles, 32 (tableau)
- Couplage
 contraction musculaire, 519
 définition, 27
 et potentiel de groupe, 199
- Crabtree, effet
 (voir Pasteur, effet)
- Créatine
 couplage, 207
 synthèse, 15
- Crocétine, 451
- Crotonyl-CoA, 397

Cryptoxanthine, 449

Cyanocobalamine, 75
(vitamine B₁₂)
synthèse, 438

Cyclopentane, 452

Cynurénine, 402

Cystathionine, 410, 412

Cystéamine, 387 (tableau), 397

L (-) cystéine, 108, 410, 412
catabolisme, 396
décarboxylation, 387 (tableau)
désamination, 542
synthèse, 409

L-cystine, 108, 410
catabolisme, 396
synthèse, 409

Cytisine, 469

Cytochrome a, 315-317, 327
chaîne respiratoire, 323, 326
spectre, 326

Cytochrome a₁, 315-317
chaîne respiratoire, 326

Cytochrome b, 315-317, 327
chaîne respiratoire, 322, 323
spectre, 322

Cytochrome b₁
et décarboxylation, 389

Cytochrome c, 315-317, 327
chaîne respiratoire, 323, 324
et photosynthèse, 362
rôle catalytique, 173
spectre, 325

Cytochrome c₁, 317, 327
chaîne respiratoire, 323
spectre, 324

Cytochrome f, 364

Cytosine, 62
(2-oxy-4-amino-pyrimidine)
énergie de résonance, 64
phoo, pbo, 64

D

Décarboxylation
acides aminés, 386
acides cétoniques, 389
bactérienne, 543, 545
et production d'amines, 387 (tableau)

Délocalisation électronique
et structure des molécules, 36 et seq.

Désamidation, 379

Désamination non oxydative, 376

Désamination oxydative, 372

Désoses, 92, 93

2-Désoxy-2-amino-β-D-galactose
(voir Galactosamine)

2-Désoxy-2-amino-β-D-glucose
(voir Glucosamine)

6-Désoxy-L-galactose
(voir L-fucose)

6-Désoxy-L-mannose
(voir L-rhamnose)

2-Désoxy-D-ribose, 93

Desulfovibrio, 548, 549

Détoxication, 8

Ceutéroporphyrine III, 51

1,4-Diaminobutane
(voir Putrescine)

1,5-Diaminopentane
(voir Cadavérine)

Dicoumarol
et phosphorylations ch. respiratoire, 329

Diholositides, 94
non réducteurs, 94
réducteurs, 96

Dihydroflavonols, 467

Dihydrorhodoxanthine, 450

Dihydrouridine
et sRNA, 486

Dihydroxyacétone, 83

3,4-Dihydroxy-L-phénylalanine, 388
(Dopa)

Diméthylglycocolle, 433

N²-diméthylguanosine
et sRNA, 486

6,7-Diméthyl-9-méthyl-isoalloxazine
(voir Lumiflavine)

6,7-Diméthyl-9-D-ribityl-isoalloxazine
(voir Riboflavine)

2,4-Dinitrophénol
et phosphorylations ch. respiratoire, 329

Distéaropalmitine, 231

DNA
(voir Ac. désoxyribonucléiques)

Donneurs
méthyle, 432

Dopa
(voir 3,4-Dihydroxy-L-phénylalanine)

E

Eau
diffusion, 254
flux osmotique, 254

Ecosystèmes
définition, 5

Electrons π, 36

Electrons sigma, 36

Electrophile, 60
définition, 55

- Emétine, **468**
- Endergonique, **22**
- Endothermique, **22**
- Énergie
 contrôle de la production, **528**
 définition, **25**
 formes de l'énergie, **26**
 de localisation, **38**
 des orbitales moléculaires, **37**
 de résonance, **37**
 de résonance et évolution, **38**
- Energie d'activation
 (voir Enzymes)
- Energie libre
 de la biosphère, source, **353**
 et constante d'équilibre, **23**
 définition, **21**
 variation d'— standard, **23**
- Enthalpie, **22**
- Entropie
 définition, **22**
 et probabilité, **25**
- Enzymes
 cinétique, **159**
 classification, **179**
 constante de Michaelis, **164**
 énergie d'activation, **155**
 inhibition compétitive et non compétitive, **165**
 mécanisme de la catalyse, **167**
 des noyaux cellulaires, **219**
 régulation de la synthèse, **526**
 rôle du coenzyme, voir coenzymes
- Epinéphrine, **388**
- Equilibre
 dans la cellule, **217**
 définition, **28**
 dynamique, **28**
- Eriodictyol, **59**
- L-érythrose, **86**
- D-érythrose, **86**
- D-érythrose-4-P
 cycle des pentoses, **287**
 et photosynthèse, **366**
- Escherichia coli*, **542**
- Etape limitante
 contrôle, **525**
 définition, **523**
- Etat stationnaire
 (voir Equilibre)
- Ethanol
 glycolyse, **280**
- Ethanolamine, **235, 394**
- Exergonique, **22**
- Exothermique, **22**
- F**
- FAD
 (voir Flavine-adénine-dinucléotide)
- Farnésyl-pyrophosphate, **459**
 synthèse, **458**
- Ferrédoxine
 photosynthèse, **363, 364**
- Fibrinogène
 composition en ac. aminés, **504**
- Flavan, **57**
- Flavandiols, **467**
- Flavanones, **58, 467**
- Flavine, **65**
 (isoalloxazine)
- Flavine-adénine-dinucléotide, **74**
 chaîne respiratoire, **317**
 et photosynthèse, **360, 362**
 rôle catalytique, **172**
 synthèse, **444**
- Flavine-mononucléotide, **71, 72**
 orbitales moléculaires, **174** (tableau)
 rôle catalytique, **172**
 synthèse, **444**
- Flavine-monophosphate
 (voir Flavine-mononucléotide)
- Flavonols, **58, 467**
- Flavones, **58, 467**
- Flavoprotéines, **316**
 chaîne respiratoire, **318**
 et oxydases, **373**
 rôle catalytique, **176**
- Flavoxanthine, **450**
- FMN
 (voir Flavine-mononucléotide)
- Forces électromotrices
 éléments, **191** (tableau)
 molécules organiques, **194** (tableau)
- Formononétine
 synthèse, **466**
- N-formylcynurénine, **402**
- Formylglycocolle, **409**
- α -Formylglycyl-D-pénicillamine, **129**
- Fructofuranose-6-P, **276**
 cycle des pentoses, **287**
 glycolyse, **277**
 photosynthèse, **366**
- Fructofuranose-1,6-PP, **278**
 glycolyse, **277**
 et photosynthèse, **366**
 synthèse, **430**
- Fructosanes, **103**
- Fructose-6-P
 (voir Fructofuranose-6-P)
- Fructose-1,6-PP
 (voir Fructofuranose-1,6-PP)

L-fucose, **93**
 (6-désoxy-L-galactose)
 Furan, **88**
 Furfural, **91**

G

Galactanes, **103**
 Galactosamine, **92**
 (2-désoxy-2-amino- β -D-galactose)
 Galactose, **97**, **237**
 GDP
 (voir Guanosine-diphosphate)
 Gène
 opérateur, **526**
 répresseur, **526**
 structural, **526**
 Gentianose, **97**, **98**
 Gentibiose, **98**
 Géranylgéranyl-pyrophosphate
 synthèse, **458**
 Géranyl-pyrophosphate
 synthèse, **458**
 Gliadines, **134**
 Globulines, **134**
 D-glucofurannose
 α , **89**
 β , **89**
 D-glucono- δ -lactone-6-P
 cycle des pentoses, **287**, **288**
 D-glucopyrannose
 α , **89**
 β , **89**
 Glucosamine, **92**
 (2-désoxy-2-amino- β -D-glucose)
 Glucosane, **90**
 D-glucose, **88**
 α , **88**
 β , **88**
 cycle de l'ac. glucuronique, **292**
 produits d'oxydation, **94**
 Glucose-1-P, **276**
 Glucose-6-P, **276**
 cycle des pentoses, **287**, **288**
 glycolyse, **277**
 Glutaconyl-CoA, **397**
 Glutamine, **379**, **407**, **417**
 catabolisme, **395**
 et production NH_4 , **379**
 synthèse, **405**
 Glutaryl-CoA, **397**, **402**
 Glutathion, **127**
 synthèse, **438**
 Glutélins, **134**
 D (+)-glycéraldéhyde, **83**
 L (-)-glycéraldéhyde, **83**
 et photosynthèse, **366**

Glycérides, **230**
 biosynthèse, **256**
 des membranes, **240** (tableau), **242** (fig.),
244 (fig.)
 propriétés, **231**, **233** (tableau)
 saponification, **231**

Glycérol, **93**
 glycolyse, **281**

Glycérophosphatides, **234**

Glycine
 (voir Glycocolle)

Glycocolle, **109**, **398**, **409**, **431**
 catabolisme, **394**
 désamination, **542**
 succinate, cycle, **395**
 synthèse, **408**
 synthèse des porphyrines, **422**
 titration, **122**

Glycogène, **102**
 structure, **103**
 synthèse, **436**

Glycol, **83**

Glycolyse, **274**
 autres enzymes, **281**
 contrôle, **283**, **339**
 dénouements, **280**
 effet Pasteur, **284**
 étapes, **277**
 formation d'ATP, **332** (tableau)
 localisation intracellulaire, **285**
 préludes, **282**
 renversement, **283**
 schéma général, **276**

Gommes, **105**

Granum
 organisation, **357**

GTP
 (voir Guanosine-triphosphate)

Guanine, **63**
 (2-amino-4-oxypurine)
 énergie de résonance, **64** (tableau)
 phoo, pboi, **64** (tableau)
 synthèse, **443**

Guanosine, **69**
 synthèse, **443**

Guanosine-diphosphate, **305**, **331**

Guanosine-triphosphate, **305**

L-gulonolactone
 cycle de l'ac. glucuronique, **292**
 métabolisme du glucose, **293**

Guvacine, **111**

H

Harden et Young, ester de
 (voir Fructofurannose-1,6-PP)

Harmaline, **468**

Hème, **421**

Hémoglobine
séquence ac. aminés, 508-509
structure, 507

Henderson-Hasselbalch
équation de, 125

Héparine, 106

Hespérétine, 58

Hétérauxine, 54

Hexose-monophosphates, cycle
(voir Pentoses, cycle)

Histamine, 387, 399

L-histidine, 109, 339, 417
catabolisme, 400
décarboxylation, 387
désamination, 542
synthèse, 415

Histidinol, 417

Histidinol-phosphate, 417

Histones, 132

Homocystéine, 410, 412, 433

Homosérine, 338, 410, 412, 414
synthèse, 411

Horloge biologique, 531

Hund
règle de, 34

Hydrazones
(voir Oses)

Hydrogène
électrode, 192

Hydroquinone, 190

Hydrosphère
composition, 3
définition, 2

3-Hydroxycynurénine, 402

β -Hydroxyisobutyryl-CoA, 392

Hydroxylamine, 535

Hydroxylsine, 111

β -Hydroxy- β -méthylglutaryl CoA, 314, 393
synthèse mévalonate, 457

L-hydroxyproline, 109, 407
catabolisme, 394
synthèse, 405

5-Hydroxytryptophane
décarboxylation (tableau)

Hygrine, 469

Hypotaurine, 396

Hypoxanthine, 63
(4-oxypurine)
énergie de résonance, 64 (tableau)
synthèse, 443

I

Idiotie phénylpyruvique, 411

Imidazole, 55, 63
et délocalisation électronique, 55

Imidazylacétol-phosphate, 417

Imidazylglycérol-phosphate, 417

Indice
énergétique, 37
d'iode, 232
de liaison mobile, 39
de saponification, 232
de structure, 38
de valence libre, 39

Indole, 54, 403, 416

β -Indoléthylamine, 387

Indoxyle, 403

Indoxylsulfate, 403

Induction, 526

Inhibiteurs
enzymes, 165, 528
feedback, 529

Inosine
et sRNA, 486
synthèse, 443

Inositol, 93

Insuline
peptides de l'hydrolysate, 146 (tableau)

Ionosphère
définition, 2

Isoalloxazine
(voir Flavine)

Isobutyryl-CoA, 392

Isoflavones, 467

L-isoleucine, 109, 414
catabolisme, 392
synthèse, 413

Isoprène, 445
synthèse, 457

Isoprénoides, 452
synthèse, 456

Isoquinolines, 468

Isotopes
activité spécifique, 15
définition, 12
mise en évidence, 14
période, 13
unités de mesure, 14

Isovaléryl-CoA, 393

K

Krebs, cycle de
(voir Ac. citrique, cycle)

L

Lactone, 227

Lactose, 96, 97

Laminarine
(voir Polyglucoses)

Lanostérol, 461
synthèse, 460

Lécithines, 234
biosynthèse, 258

Légumineuses
fixation d'azote, 537

L-leucine, 109, 414
catabolisme, 392
synthèse, 413
synthèse mévalonate, 457

Lévanos, 103

Lévo-glucosane, 90

Liaisons
amidique
synthèse, 437
de coordination, 35
covalente, 31
hydrogène, 42 (tableau)
ionique, 43
osidique
synthèse, 435
peptidique, 114
synthèse, 437
 β -(polysaccharides)
synthèse, 437
semi-polaire, 35

Liaisons riches
(voir Potentiel de groupe)

Lichénine
(voir Polyglucoses)

Lipides
complexes, 234
constituants, 223
ternaires, 230
ultrastructure, 245

Lithosphère
définition, 2

Lohmann
réaction de, 207

Lumazine, 65

Lumichrome, 68

Lumiflavine, 66
(6,7-diméthyl-9-méthyl-isoalloxazine)

Lupinine, 469

Lycopène, 447

Lycophylle, 448

Lycoxanthine, 448

Lynen, cycle de
(voir Ac. gras, oxydation)

Lysophosphatidyl d'éthanolamine
(voir Plasmalogènes)

L-lysine, 109, 418
catabolisme, 397
décarboxylation, 387 (tableau)
synthèse, 419
et synthèse des alcaloïdes, 469
titration, 125

M

Macromolécules
définition, 80
isolement et purification, 80

Malonyl-CoA, 255
synthèse tétracycline, 464

Maltose, 96

Mannanes, 103

Mavacurine, 468

Mélanine, 388

Mélibiose, 98

Membrane cellulaire, 222
anabolismes primaire et secondaire, 261
composition chimique, 237, 238 (tableau)
et hémolyse, 239
perméabilité à l'eau, 254
potentiel électrique, 248, 266
synthèse des protéines, 261
transport actif, 261
ultrastructure, 249

β -Mercaptoéthylamine, 74

Métabolisme
de la biosphère, 551
et chirurgie expérimentale, 9
contrôle et intégration, 523
et coupe mince, 10
définition, 19
enzyme purifié, 11
et génétique, 16
organes isolés, 9
organisme entier, 7
unités C₁, 429

L-méthionine, 110, 410, 412, 433
catabolisme, 397
synthèse, 411

α -Méthylacétoacétyl-CoA, 393

Méthylacrylyl-CoA, 392

α -Méthylbutyryl-CoA, 393

β -Méthylcrotonyl-CoA, 393

5-Méthylcytosine
énergie de résonance, 64 (tableau)

2-Méthyl-3-difarnésyl-1,4-naphtoquinone
(voir Vit. K₂)

Méthyle
biosynthèse, 431
donneurs, 432

β -Méthylglutaconyl-CoA, 393

3-Méthylguanosine
et sRNA, 486

1-Méthylhistamine, 399

1-Méthylhistidine, 399

3-Méthylhistidine, 399

α -Méthyl- β -hydroxybutyryl-CoA, 393

3-Méthylinosine
et sRNA, 486

Méthylmalonate semialdéhyde, 392

Méthylmalonyl-CoA, 313, **392**
 N'-méthylnicotinamide, **206**
 potentiel chimique, 206
 2-Méthyl-3-phytyl-1,4-naphtoquinone
 (voir Vit. K₁)
 Méthyl-pyrrolidine-pyridine
 (voir Nicotine)
Micrococcus aureus, 543, 548
 Mitochondrie, 295
 compartiments, 338
 contraction, 341
 contrôle de l'activité, 335, 339
 formation, 349
 origine, 350
 rôle hydroxybutyrate, 337
 transport actif, 340
 ultrastructure, 347
 utilisation énergie libre, 340
 MNN
 (voir Mononucléotide de nicotinamide)
 Molalité
 définition, 23
 Molarité
 définition, 23
 Mononucléotide de nicotinamide, **72**
 Morphine, **468**
 Mucilages, 105
 Mucopolysaccharides, 105
 Muscle
 (voir aussi Myofibrille, Sarcomère)
 contraction, 515
 et hydrolyse ATP, 519
 et potentiel d'action, 519
 Mutachrome
 (voir Citroxanthine)
 Myéline
 ultrastructure, 251
 Myofibrille
 structure, 511
 Myoglobine
 structure, 510
 Myosine
 composition en ac. aminés, 504 (tableau)
 contraction, 518
Myxophycées, 539
Myxoxanthine, **449**

N

NAD
 (voir Nicotinamide-adenine-dinucléotide)
 NADP
 (voir Nicotinamide-adenine-dinucléotide-phosphate)

Nécine, **469**
 Néolidyl-PP, **459**
 Neuberg, ester de
 (voir Fructofurannose-6-P)
 Nicotinamide, **60**
 caractéristiques électroniques, 60
 Nicotinamide-adenine-dinucléotide
 chaîne respiratoire, 318
 et hydroxybutyrate, 337
 orbitales moléculaires, 174 (tableau)
 rôle catalytique, **72**
 synthèse, 444
 Nicotinamide-adenine-dinucléotide-phosphate, **73**
 chaîne respiratoire, 318
 photosynthèse, 360
 rôle catalytique, 172
 synthèse, 444
 Nicotine, **60**
 (méthyl-pyrrolidine-pyridine)
Nitrobacter, 535, 548
Nitrosococcus, 534
Nitrosomonas, 534, 548
 Norépinéphrine, 388
Nostoc muscorum, 539
 Nucléoprotéines
 définition, 148
 Nucléosides, 68
 synthèse, 443
 Nucléotides, 69
 séquence du sRNA, 485
 synthèse, 443

O

Ocytocine, **129**
 Oestrane, **456**
 Oestrone, **456**
 Oligosaccharides, 94
 Orbitale, 33
 certains éléments, 34 (tableau)
 niveau énergétique, 34
 oxygène, 34 (tableau)
 Ornithine, **111**, 406, 407
 ammonification dans le sol, 543
 catabolisme, 394
 et cycle de l'urée, 527
 décarboxylation, 387 (tableau)
 synthèse, 405
 et synthèse des alcaloïdes, 469
 Osazones
 (voir Oses)

Oses, 83
fonction pseudoaldéhydrique, 89
fonction pseudocétonique, 89
formules cycliques, 86
formules de Haworth, 89
hydrazones, 91
naturels, 92
osazones, 91
propriétés, 90
synthèse, 434

Oses aminés, 92

ω -oxydation, 313

Oxydo-réduction, 188
aspect quantitatif, 192
chaîne respiratoire, 198 (tableau)
éléments, 188
molécules organiques, 189
et potentiel de groupe, 198
radicaux libres, 190
relations énergétiques, 196

Ozone, 35

P

Papavérine, 468

Pasteur, effet, 284

Pauli
principe d'exclusion de, 33

pbol
définition, 37

Pénicillamine, 129

Pénicilline G, 129

Pentoses, cycle, 286
et photosynthèse, 360, 366

Pentose-phosphates
synthèse, 434

Pentosurie, 293

Peptides, 125
hormones peptidiques, 129
hydrolysats de l'insuline, 146 (tableau)
naturels, 127
de synthèse, 126

Perhydrophénanthrène, 452

Période
(voir Isotopes)

pH
définition, 115
indicateurs, 121 (tableau)

Phalloïdine, 129

Phaseolus vulgaris, 537

Phénanthrène, 452

Phénol, 39

Phénylacétylglutamine, 8

L-phénylalanine, 110, 416, 465, 466
catabolisme, 400
décarboxylation, 387 (tableau)
synthèse, 413
et synthèse des alcaloïdes, 468

Phényléthylamine, 387 (tableau)

Phénylglucosazone, 91

Phénylhydrazine, 91

phoo
définition, 37

Phosphate d'arginine, 201
couplage, 201

Phosphate de créatine, 201
couplage, 201, 207

Phosphate de pyridoxal
(voir Pyridoxal-3-phosphate)

Phosphates riches en énergie
(voir Potentiel de groupe)

Phosphatidal d'éthanolamine
(voir Plasmalogènes)

Phosphatides
biosynthèse, 257
catabolisme, 261
des membranes, 241 (tableau), 242 (fig.),
243 (fig.), 244 (fig.)

L-phosphatidylsérines, 235
biosynthèse, 257

Phosphodihydroxyacétone
cycle des pentoses, 287
glycolyse, 278
et photosynthèse, 366

Phosphoglyceraldéhyde
cycle des pentoses, 287, 289
glycolyse, 278
et photosynthèse, 366

3-Phosphoglycérol
glycolyse, 281

Phosphoinositides, 236
(phosphatidylinositols)
biosynthèse, 258

Phosphore
cycle de la biosphère, 550
entrée dans la biosphère, 536

N¹-(5'-phosphoribosyl) ATP, 417

5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphate, 417

Phosphorylations
des chaînes respiratoires, 328
de la glycolyse, 332
photosynthétiques, 362

Phosphorylcholine, 236

3-Phosphosérine, 408

Photosynthèse
bactéries, 365
et cycle des pentoses, 360 366
définition, 355
étapes, 360
et phosphorylations, 362

- Phycobilines, 360
- Physostigmine, 468
- Phytol, 445
- pK
définition, 117, 119 (tableau)
- Planck
constante de, 38
- Plasmalogènes, 235
biosynthèse, 260
- Point isoélectrique, 123
- Polyalcools, 93
- Polyglucosamines, 105
- Polyglucoses, 97, 103
- Polysaccharides, 82, 97
des bactéries, 106
des groupes sanguins, 107
synthèse, 435
- Polyuronides, 104
- Porphine, 49
caractéristiques électroniques, 52
- Porphobilinogène, 423
- Porphyrines
biosynthèse, 422
énergie de résonance, 38
- Potentiel d'action
et cycle de l'acétylcholine, 270
définition, 268
et impédance, 270
- Potentiels bioélectriques
et concentrations ioniques, 266 (tableau)
et concentrations en K, 267 (fig.)
différentes cellules, 268 (tableau)
équation de Nernst, 266
et flux nets des cations, 268 (tableau)
- Potentiel chimique
définition, 26
- Potentiel de groupe, 198
acyl-imidazoles, 206
acyl-thioesters, 205
classification, 201
et couplage, 199
onium, 206
phosphates, 201
orbitales moléculaires, 203
potentiel chimique, 205 (tableau)
- Potentiel d'oxydo-réduction
(voir Oxydo-réduction)
- Pregnane, 456
- Prolamines
(voir Gliadines)
- L-proline, 110, 407
catabolisme, 394
synthèse, 405
- Propanolamine, 387 (tableau)
- Propionyl-CoA, 393, 398
sort, 313
- Prosthétique (groupement), 158
- Protamines, 131
- Protéines, 130
composition en ac. aminés, 143, 144 (tableau), 504 (tableau)
configuration, 147
conjuguées, 138
fibreuses, 130
globulaires, 131
mitochondrie, biosynthèse, 342
propriétés des solutions, 138
séquences, 143, 508-509
synthèse, 483
titration, 140
- Proteus vulgaris*, 541, 542
- Protoporphyrine, 51
III (IX), 420
- Pseudopellétérine, 469
- Pseudouridine
et sRNA, 436
- Ptéridine, 66
pboI, 68
- Purines, 63
énergie de résonance, 38, 64 (tableau)
synthèse, 441 (fig.)
- Pyran, 56, 88
- Pyrazine, 61
- Pyridazine, 61
- Pyridine, 39, 60
- Pyridoxal, 61
- Pyridoxal-3-phosphate, 61
(phosphate de pyridoxal)
rôle catalytique, 177
synthèse, 439
et transamination, 382
- Pyridoxamine, 61
et transamination, 382
- Pyridoxamine-3-phosphate, 61
- Pyridoxine, 61
(vitamine B₆)
et transamination, 381
- Pyrimidines, 61, 62, 63
énergie de résonance, 38, 64 (tableau)
synthèse, 442
- Pyrophosphate de thiamine, 178
et décarboxylations, 301, 305
rôle catalytique, 178
synthèse, 439
- Pyrrole, 39, 49
- Pyrrolidine, 53
- Q**
- Quantasome
définition, 355
- Quercétine, 58
synthèse, 466

Quinazolines, 468
 Quinine, 468
 Quinolines, 468
 Quinone, 190
 et photosynthèse, 364

R

Radicaux libres, 190
 Raffinose, 97, 98
 Réplication
 (voir DNA)
 Répression, 525
 Réserpine, 468
 Résonance
 définition, 36
 et délocalisation électronique, 35
 énergie de —, 37
 et potentiel de groupe, 203
 Réticulum endoplasmique
 et glycolyse, 285
 granulaire, 213
 lisse, 214
 L-rhamnose, 93
 (6-désoxy-L-mannose)
Rhizobium, 537, 548
Rhizopus tritici, 544
 Rhodoviolascine (?), 448
 Ribitol, 93
 Riboflavine, 67
 (6,7-diméthyl-9-D-ribityl-isoalloxazine)
 synthèse, 439
 D-ribose-5-P
 cycle des pentoses, 287, 289, 289
 photosynthèse, 366
 Ribosomes
 définition, 483
 rôle dans la synthèse des protéines, 487
 Ribothymidine
 et sRNA, 486
 Ribotides
 synthèse purines, 441 (fig.)
 D-ribulose-5-P
 cycle des pentoses, 287, 289
 photosynthèse, 366
 D-ribulose-1,5-PP
 cycle des pentoses, 287
 photosynthèse, 366
 RNA
 (voir Ac. ribonucléiques)
 mRNA
 (voir RNA)
 rRNA
 (voir RNA)

sRNA
 (voir RNA)
 tRNA
 (voir RNA)
 Robison, ester de
 (voir Glucose-6-P)
 Rubichrome, 449
 Rubixanthine, 448
 Rutaecarpine, 468

S

Saccharose, 94, 95
 photosynthèse, 366
 Saponification, 231
 glycérides, 231
 indice, 232
 Sarcomère
 contraction, 517
 structure, 511
 Scatole, 403
 Scatoxyle, 403
 Scymnol, 462
 D-sédoheptulose-7-P
 cycle des pentoses, 287, 289
 photosynthèse, 366
 D-sédoheptulose-1,7-PP
 photosynthèse, 366
 β -Semialdéhyde
 de l'ac. aspartique, 412, 418
 γ -Semialdéhyde
 de l'acide N-acétylglutamique, 403
 de l'acide glutamique, 407
 ε -Semialdéhyde- α -aminoadipique, 397, 418
 Semiquinone, 190
 Serbérine, 468
 L-sérine, 110, 408, 409, 410, 412, 431
 catabolisme, 394
 synthèse, 408
 Sérotonine, 54, 387 (tableau)
 phoo, 54
 Sérumbumine
 composition en ac. aminés, 504
 D-sorbitol, 93
 Soufre
 cycle de la biosphère, 549
 entrée dans la biosphère, 541
 Sous-couche électronique, 32
 Spartéine, 469
 Sphingolipides, 236
 Sphingomyélines, 236
 biosynthèse, 260
 Sphingosines, 236

Spin, 33
 Squalène
 cyclisation, 460
 synthèse, 459
 Standard
 état, 23
Steady state
 (voir Equilibre)
 Stérane, 452
 Stérides, 233
 Stéroïdes, 453
 naturels, 455
 et voie mévalonique, 463
 Stilbènes, 467
Streptococcus fecalis, 543
Streptococcus hemolyticus, 543
 Strychnine, 468
 Succinyl-CoA, 311, 313, 392

T

Tampon (mélange)
 définition, 120
 Taurine, 387 (tableau)
 synthèse, 396
 Terpènes, 445
 et ac. mévalonique, 462
 et dérivés, synthèse, 458
 Tétracycline
 synthèse, 464
 Thermodynamique
 1^{re} loi, définition, 20
 2^e loi, définition, 21
 nature statistique, 24
 et processus irréversibles, 28
 Thiamine, 62, 206
 potentiel chimique, 206
 synthèse, 439
 Thiazole, 56
Thiobacillus denitrificans, 535, 548
Thiobacillus thiooxydans, 535
Thiobacillus thioparus, 535
 Thioéthanolamine
 (voir β -Mercaptoéthylamine)
Thiorhodacées, 367
 D-thréonine, 112
 stéréoisomérisation, 112
 L-thréonine, 110, 412, 414
 catabolisme, 398
 décarboxylation, 387 (tableau)
 stéréoisomérisation, 112
 synthèse, 411
 D-thréose, 86
 L-thréose, 86

Thylakoïde
 et algues bleues, 357
 constituants, 359
 définition, 355
 ultrastructure, 358
 Thymine, 62
 (2-4-dioxy-5-méthyl-pyrimidine)
 énergie de résonance, 64 (tableau)
 phoo, pboi, 64 (tableau)
 Thyroxine
 et phosphorylations ch. respiratoire, 329
 Tiglyl-CoA, 393
 Tocophérol, 57
 nomenclature, 57 (tableau), 321 (tableau)
 phoo, 58
 rôle, 57
 α -Tocophérol, 57, 321
 Torularhodine, 451
 Transamination, 381
 dans différents tissus, 383 (tableau)
 rôle des amides, 384
 rôle biologique, 384
 Transméthylation, 432
 Transport actif
 et consommation d'oxygène, 265 (tableau)
 définition, 261
 et hydrolyse de l'ATP, 264
 mitochondrie, 340
 source d'énergie, 264
 Travail
 chimique, 27
 électrique, 26, 266, 519
 mécanique, 26, 519
 osmotique, 26, 261
 photochimique, 27
 pression-volume, 26
 Tréhalose, 95
 Triholosides, 97
 Trioléine, 230
 Triose-phosphate, 278, 430
 Tripalmitine, 230
 Triplet, 480
 (voir Codon)
 Tristéarine, 230
 Tropocollagène
 structure, 505
 Troposphère
 composition, 2 (tableau)
 définition, 1
 L-tryptophane, 110, 402, 416
 catabolisme, 401
 décarboxylation, 387 (tableau)
 synthèse, 413
 et synthèse des alcaloïdes, 468
 Tyramine, 387 (tableau)
 L-tyrosine, 110, 401, 416, 466
 et ac. shikimique, 463, 465 (fig.)

L-tyrosine (suite)
catabolisme, 400
décarboxylation, 387 (tableau)
synthèse, 411

U

Ubichromanol
chaîne respiratoire, 320

Ubichroménol
chaîne respiratoire, 320

Ubiquinone
chaîne respiratoire, 319

UDP
(voir Uridine-diphosphate)

UDPG
(voir Uridine-diphosphate-glucose)

UMP
(voir Uridine-monophosphate)

Uracile, 62, 70
(2,4-dioxy-pyrimidine)
énergie de résonance, 64 (tableau)
synthèse, 443

Urée, 62
et ammonification dans le sol, 543
cycle, 527

Uridine, 70
synthèse, 443

Uridine-diphosphate, 70

Uridine-diphosphate-glucose, 71

Uridine-monophosphate, 70

Uridine-triphosphate, 70

Urobacillus, 543, 548

Uroporphyrine
I, 421
III, 420

Uroporphyrinogène
I, 421
III, 420

UTP
(voir Uridine-triphosphate)

V

Valences secondaires, 39
importance biologique, 44
principaux types, 40

L-valine, 110, 414
catabolisme, 392
synthèse, 413

Van der Waals
forces de, 40
rayon de, 42 (tableau)

Vasopressine, 129

Vie
définition, 220

Violaxanthine, 450

Virus
configuration RNA, 493
cycle biologique, 492, 498
structure, 491, 494, 495
structure du DNA, 496
synthèse du DNA, 499

Vitamine B₂
(voir Riboflavine)

Vitamine B₆
(voir Pyridoxine)

Vitamine B₁₂
(voir Cyanocobalamine)

Vitamine C
(voir Ac. L-ascorbique)

Vitamine E
(voir Tocophérols)

Vitamine K₁
(2-méthyl-3-phytyl-1,4-naphtoquinone)
chaîne respiratoire, 321

Vitamine K₂
(2-méthyl-3-difarnésyl-1,4-naphtoquinone)
chaîne respiratoire, 321

Vitesse de réaction
catalyseur, 24

X

Xanthine, 63
(2,4-dioxy-purine)
énergie de résonance, 64 (tableau)

Xanthophylle, 449

Xanthophyllépoxyde, 450

Xylanes, 104

Xylitol
cycle de l'ac. glucuronique, 292

L-xylose
et métabolisme du glucose, 293

C-xylulose
cycle de l'ac. glucuronique, 292

L-xylulose
cycle de l'ac. glucuronique, 292
pentosurie, 293

D-xylulose-5-P
cycle de l'ac. glucuronique, 292
cycle des pentoses, 287, 288, 289
photosynthèse, 366

Y

Yohimbine, 468

Z

Zéaxanthine, 449

ENZYMES CITÉS DANS LE TEXTE

Le nom systématique apparaît en caractères gras et le nom commun recommandé, en caractères courants. Les noms adoptés par l'usage mais dont l'emploi n'est pas recommandé sont écrits en italiques. Les chiffres précédant le nom de l'enzyme correspondent aux différentes dénominations de cet enzyme dans la table ci-dessous.

1 (299)	Acétate : CoA ligase (AMP), 6.2.1.1	185
2 (3)	Acétylcholine hydrolase, 3.1.1.7	170, 182, 270, 378
3 (2)	Acétylcholinestérase, 3.1.1.7	170, 182, 270, 378
4 (5, 70)	Acétyl-CoA : choline O-acétyltransférase, 2.3.1.6	181, 270
5 (4, 70)	Acétyltransférase de la choline, 2.3.1.6	181, 270
6 (300)	Acide : CoA ligase (AMP), 6.2.1.2, 6.2.1.3	311
7 (72)	<i>Aconitase, 4.2.1.3</i>	429
8 (87)	Acyl-CoA : (accepteur) oxydoréductase, 1.3.99.3	311, 341
9 (11)	Acyl-CoA : acétyl-CoA C-acyltransférase, 2.3.1.16	341
10 (12)	Acyl-CoA : 1,2-diglycéride O-acyltransférase, 2.3.1.20	256
11 (9)	Acyltransférase de l'acétyl-CoA, 2.3.1.16	341
12 (10)	Acyltransférase des diglycérides, 2.3.1.20	256
13 (80)	Acide 2-cétonique carboxy-lyase, 4.1.1.1	183, 280
14 (82)	Adénosine aminohydrolase, 3.5.4.4	219, 443
15 (48)	Adénosyltransférase de la méthionine, 2.5.1.6	433
16 (153)	L-Alanine : 2-cétoglutarate aminotransférase, 2.6.1.2	307, 383
17 (279)	Alanine racémase, 5.1.1.1	184
18 (88)	Alcool : NAD oxydoréductase, 1.1.1.1	280
18a (231a)	Aldéhyde : oxygène oxydoréductase, 1.2.3.1	73
19 (20, 69, 123)	Aldolase, 4.1.2.7, 4.1.2.13	219, 277, 364, 366
20 (19)	Aldolase du fructose-diphosphate, 4.1.2.13	219, 277
21	Amino-acyl-RNA synthétases, 6.1.1	485
22 (203)	Aminopeptidase de la leucine, 3.4.1.1	182
23	Aminotransférases, 2.6.1	381
24 (37, 152)	Aminotransférase de l'aspartate, 2.6.1.1	181, 307, 383
25 (214, 215)	<i>Aminoxydase, 1.4.3.4</i>	72, 377
26 (176)	5-Aminolévulinate hydro-lyase, 4.2.1.24	422
27 (34)	Ammoniac-lyase de l'aspartate, 4.3.1.1	183
28 (132)	α -Amylase, 3.2.1.1	182, 544
29 (133)	β -Amylase, 3.2.1.2	102
30 (42)	Apyrase, 3.6.1.5	183
31 (32)	Asparaginase, 3.5.1.1	379
32 (31)	L-Asparagine amidohydrolase, 3.5.1.1	379
33	L-Asparagine : acide 2-cétonique aminotransférase, 2.6.1.14	379
34 (27)	L-Aspartate ammoniac-lyase, 4.3.1.1	183
35	L-Aspartate 1-carboxy-lyase, 4.1.1.11	388
36	L-Aspartate 4-carboxy-lyase, 4.1.1.12	388
37 (24, 152)	L-Aspartate : 2-cétoglutarate aminotransférase, 2.6.1.1	181, 307, 383

38 (52, 54)	ATPase, 3.6.1.3, 3.6.1.8	340, 528
39 (191)	ATP : L-aspartate 4-phosphotransférase, 2.7.2.4	413, 419
40 (192)	ATP : carbamate phosphotransférase, 2.7.2.2	182, 407
41 (193)	ATP : déphospho-CoA 3'-phosphotransférase, 2.7.1.24	445
42 (30)	ATP diphosphohydrolase, 3.6.1.5	183
43 (249)	ATP : D-fructose 6-phosphotransférase, 2.7.1.4	277
44 (135)	ATP : D-glucose 6-phosphotransférase, 2.7.1.2	181
45 (194)	ATP : glycérol phosphotransférase, 2.7.1.30	307
46 (164)	ATP : D-hexose 6-phosphotransférase, 2.7.1.1	208, 277
47	ATP : L-homosérine O-phosphotransférase, 2.7.1.39	413
48 (15)	ATP : L-méthionine S-adénosyltransférase, 2.5.1.6	433
49 (274)	ATP : NMN adénylyltransférase, 2.7.7.1	444
50 (195)	ATP : nucléoside-diphosphate phosphotransférase, 2.7.4.6	305
51 (196)	ATP : 3-phospho-D-glycérate 1-phosphotransférase, 2.7.2.3	278, 283
52 (38)	ATP phosphohydrolase, 3.6.1.3	340, 528
53 (197)	ATP : phosphorylase phosphotransférase, 2.7.1.38	284
54 (38)	ATP pyrophosphohydrolase, 3.6.1.8	340
55 (198)	ATP : pyruvate phosphotransférase, 2.7.1.40	279, 283
56 (199)	ATP : riboflavine 5'-phosphotransférase, 2.7.1.26	444
57 (258)	ATP : D-ribulose-5-phosphate 1-phosphotransférase, 2.7.1.19	364, 366
58	Bétaïne : L-homocystéine S-méthyltransférase, 2.1.1.5	432
59 (60)	Carbamylphosphate : L-ornithine carbamyltransférase, 2.1.3.3	181
60 (59)	Carbamyltransférase de l'ornithine, 2.1.3.3	181
61 (163, 229, 272)	Carboxylase du phosphopyruvate, 4.1.1.31, 4.1.1.32, 4.1.1.38	307
62 (269)	Carboxylase du propionyl-CoA, 6.4.1.3	313
63 (275)	Carboxylase du pyruvate, 6.4.1.1	185, 307
64 (251)	Carboxylase du ribulose-diphosphate, 4.1.1.39	364, 367
65	Carboxy-lyases (décarboxylases), 4.1.1	386
66 (239)	Carboxypeptidase A, 3.4.2.1	182
67 (241)	Catalase, 1.11.1.6	157, 327
68 (89)	2-Cétoglutarate : lipoate oxydoréductase, 1.2.4.2	389
69 (19)	Cétose-1-phosphate aldéhyde-lyase, 4.1.2.7	364, 366
70 (4, 5)	Choline acétylase, 2.3.1.6	181, 270
71	Citrate hydro-lyase, 4.2.1.4	429
72 (7)	Citrate (isocitrate) hydro-lyase, 4.2.1.3	429
73	Citrulline : L-aspartate ligase (AMP), 6.3.4.5	395
74	CoA-transférases, 2.8.3	311
75 (109)	L-Cystéine sulfure d'hydrogène-lyase, 4.4.1.1	183
76 (77, 121, 232)	Cytochrome a_0 , 1.9.3.1	315, 317, 325, 326, 327
77 (76, 121, 232)	Cytochrome oxydase, 1.9.3.1	315, 317, 325, 326, 327
78	Décarboxylases (carboxy-lyases), 4.1.1	386
78a (115)	Décarboxylase de la DOPA, 4.1.1.26	388
79 (230)	Décarboxylase de l'oxaloacétate, 4.1.1.3	183, 390
80 (13)	Décarboxylase du pyruvate, 4.1.1.1	183, 280
81 (302)	Désamido-NAD : L-glutamine amido-ligase (AMP), 6.3.5.1	444
82 (14)	Désaminase de l'adénosine, 3.5.4.4	219, 443
83 (169)	Déshydratase de la L-homosérine, 4.2.1.15	376
84 (292)	Déshydratase de la L-sérine, 4.2.1.13	376, 394
85 (309)	Déshydratase de la L-thréonine, 4.2.1.16	376
86 (315)	Déshydrochlorinase du DDT, 4.5.1.1	184
87 (8)	Déshydrogénase de l'acyl-CoA, 1.3.99.3	311, 341
88 (18)	Déshydrogénase alcoolique, 1.1.1.1	280
89 (68)	Déshydrogénase du 2-cétoglutarate, 1.2.4.2	389
90 (150)	Déshydrogénase du L-glutamate, 1.4.1.2	181, 307, 375, 396, 528
91 (179)	Déshydrogénase du 3-hydroxybutyrate, 1.1.1.30	333, 337
92 (185)	Déshydrogénase de l'isocitrate, 1.1.1.41	304
93 (186)	Déshydrogénase de l'isocitrate (NADP), 1.1.1.42	304
94 (201)	Déshydrogénase du lactate, 1.1.1.27	180, 280, 339
95 (200)	Déshydrogénase du lactate, 1.1.2.3	181
96 (113, 220)	Déshydrogénase de la lipoamide, 1.6.4.3	301, 318
97 (207-209)	Déshydrogénase du L-malate, 1.1.1.37-40	306, 390
98 (218, 281)	Déshydrogénase du NAD réduit, 1.6.99.3	327, 530
99 (140)	Déshydrogénase du glucose-6-phosphate, 1.1.1.49	429
100 (160)	Déshydrogénase du 3-phosphoglyceraldéhyde, 1.2.1.12	278, 286
101 (162)	Déshydrogénase du 3-phosphoglycérol, 1.1.1.8	219, 281, 332, 339

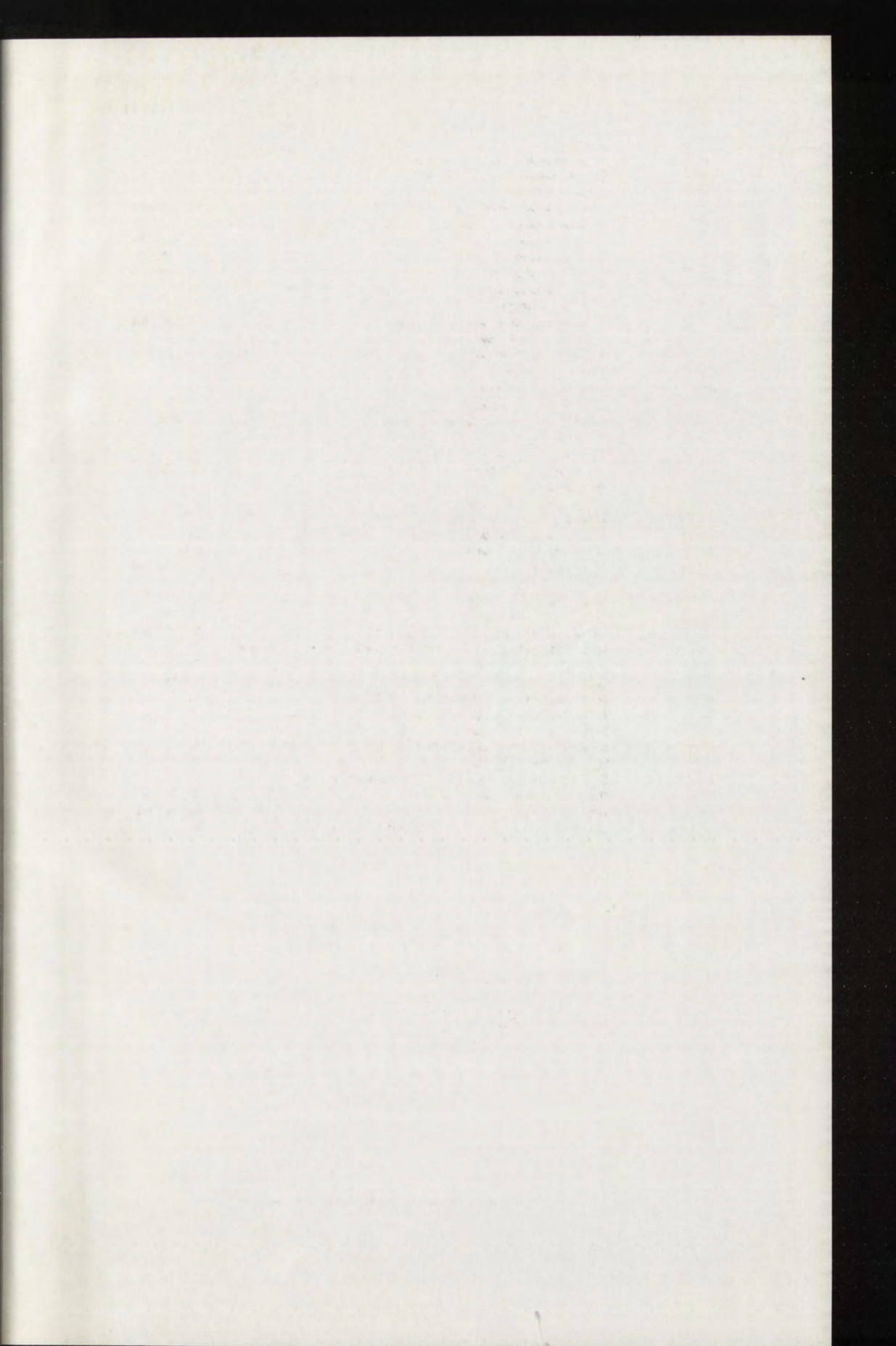
102 (277)	Déshydrogénase du pyruvate, 1.2.4.1	181, 300, 389
103 (276)	Déshydrogénase du pyruvate, 1.2.2.2	389
104 (295)	Déshydrogénase du succinate, 1.3.99.1	306, 327, 360
105 (161)	Déshydrogénase des triose-phosphates, 1.2.1.9	365, 366
106 (265)	Désoxynucléoside-triphosphate : DNA désoxynucléotidyltransférase, 2.7.7.7	478
107 (108)	Désoxyriboaldolase, 4.1.2.4	434
108 (107)	2-Désoxy-D-ribose-5-phosphate acétaldéhyde-lyase, 4.1.2.4	434
109 (75)	Désulphydrase de la cystéine, 4.4.1.1	183
110 (116)	DFPase, 3.8.2.1	183
111 (112)	Diaminoxidase, 1.4.3.6	377
112 (111)	Diamine : oxygène oxydoréductase, 1.4.3.6	377
113 (95, 220)	<i>Diaphorase</i> , 1.6.4.3	301, 318
114 (248)	Diester orthophosphorique phosphohydrolase, 3.1.4.1	480
115 (78a)	3,4-Dihydroxy-L-phénylalanine carboxy-lyase, 4.1.1.26	388
116 (110)	Di-isopropylphosphorofluoridate fluorohydrolase, 3.8.2.1	183
117 (254)	2,3-Diphospho-D-glycérate : 2-phospho-D-glycérate phosphotransférase, 2.7.5.3	279
118 (261)	Disaccharide glucosyltransférase, 2.4.1.7	435
119 (180)	Epimérase du 3-hydroxybutyryl-CoA, 5.1.2.3	311
120 (288)	3-Epimérase du ribulose-phosphate, 5.1.3.1	288, 366
120a (320a)	Epimérase de l'UDP-glucose, 5.1.3.2	71
121 (76, 77, 232)	Ferrocyclochrome c : oxygène oxydoréductase, 1.9.3.1	315, 317, 325, 326, 327
122 (125, 184)	β-D-Fructofuranoside fructohydrolase, 3.2.1.26	95, 157, 161, 435
123 (19)	Fructose-1,6-diphosphate D-glyceraldéhyde-3-phosphate-lyase, 4.1.2.13	219, 277
124 (165)	D-Fructose-1,6-diphosphate 1-phosphohydrolase, 3.1.3.11	219, 281, 364, 366
125 (122, 184)	<i>β-h-Fructosidase</i> , 3.2.1.26	161
126 (174, 206)	<i>Fumarase</i> , 4.2.1.2	183, 306, 528
127 (129)	α -Galactosidase, 3.2.1.22	97
128 (130)	β -Galactosidase, 3.2.1.23	526
129 (127)	α -D-Galactoside galactohydrolase, 3.2.1.22	97
130 (128)	β -D-Galactoside galactohydrolase, 3.2.1.23	526
131	α -1,4-Glucan : α -1,4-glucan 6-glycosyltransférase, 2.4.1.18	436
132 (28)	α -1,4-Glucan 4-glucanohydrolase, 3.2.1.1	182, 544
133 (29)	α -1,4-Glucan maltohydrolase, 3.2.1.2	102
134 (259, 260)	α -1,4-Glucan : orthophosphate glucosyltransférase, 2.4.1.1	283
135 (44)	Glucokinase, 2.7.1.2	181
136 (250)	α -D-Glucose-1,6-diphosphate : α -D-glucose-1-phosphate phosphotransférase, 2.7.5.1	435
137 (141)	Glucose-1-phosphatase, 3.1.3.10	219
138 (142)	Glucose-6-phosphatase, 3.1.3.9	281
139 (187)	D-Glucose-6-phosphate cétolisomérase, 5.3.1.9	277
140 (99)	D-Glucose-6-phosphate : NADP oxydoréductase, 1.1.1.49	429
141 (137)	D-Glucose-1-phosphate phosphohydrolase, 3.1.3.10	219
142 (138)	D-Glucose-6-phosphate phosphohydrolase, 3.1.3.9	281
143 (144)	β -Glucosidase, 3.2.1.21	97
144 (143)	β -D-Glucoside glucohydrolase, 3.2.1.21	97
145 (146)	β -Glucuronidase, 3.2.1.31	97
146 (145)	β -D-Glucuronide glucuronohydrolase, 3.2.1.31	97
147 (321)	Glucosyltransférase de l'UDP-glucose-cellulose, 2.4.1.12	181
148 (301)	L-Glutamate : ammoniac ligase (ADP), 6.3.1.2	185, 405
149	L-Glutamate 1-carboxy-lyase, 4.1.1.15	387
150 (90)	L-Glutamate : NAD oxydoréductase, 1.4.1.2	181, 307, 375, 396, 528
151 (90)	L-Glutamate : NADP oxydoréductase, 1.4.1.4	375
152 (24, 37)	Glutamate-oxaloacétate aminotransférase, 2.6.1.1	181, 307, 383
153 (16)	Glutamate-pyruvate aminotransférase, 2.6.1.2	307, 383
154 (155)	Glutaminase, 3.5.1.2	183, 379, 395
155 (154)	L-Glutamine amidohydrolase, 3.5.1.2	183, 379, 395
156 (158)	Glutamine : D-glutamyl glutamyltransférase, 2.3.2.1	525
157	L-Glutamine : acide 2-cétonique aminotransférase, 2.6.1.15	379
158 (156)	D-Glutamyltransférase, 2.3.2.1	525
159 (190)	D-Glyceraldéhyde-3-phosphate cétol-isomérase, 5.3.1.1	184, 278, 366
160 (100)	D-Glyceraldéhyde-3-phosphate : NAD oxydoréductase, 1.2.1.12	278, 286
161 (105)	D-Glyceraldéhyde-3-phosphate : NADP oxydoréductase, 1.2.1.9	365, 366

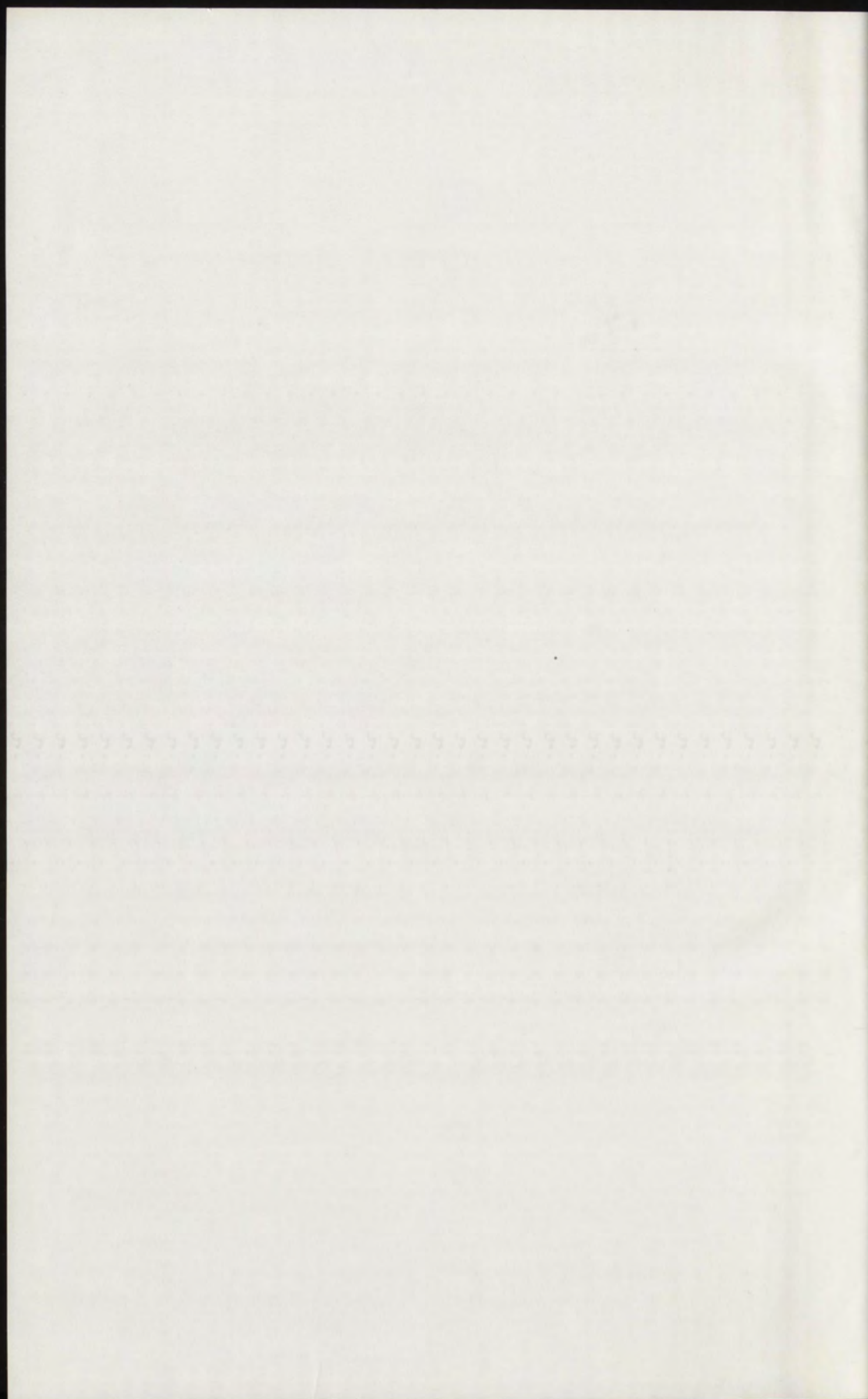
162 (101)	L-Glycérol-3-phosphate : NAD oxydoréductase , 1.1.1.8	219, 281, 332, 339
163 (61)	GTP : oxaloacétate carboxy-lyase , 4.1.1.32	307
164 (46)	Hexokinase, 2.7.1.1	208, 277
165 (124)	Hexose-diphosphatase, 3.1.3.11	219, 281, 364, 365
166	L-Histidine ammoniac-lyase , 4.3.1.3	400
167	L-Histidine carboxy-lyase , 4.1.1.22	387
168	Homogentisate : oxygène oxydoréductase , 1.13.1.5	401
169 (83)	L-Homosérine hydro-lyase , 4.2.1.15	376
170 (171)	Hyaluronate glucanohydrolase , 3.2.1.35, 3.2.1.36	182
171 (170)	Hyaluronidase, 3.2.1.35, 3.2.1.36	182
172	<i>Hydantoïnase</i> , 3.5.2.2	157
173 (177)	Hydratase de l'énol-CoA, 4.2.1.17	311, 341
174 (126, 206)	Hydratase du fumarate, 4.2.1.2	183, 306, 523
175 (252)	Hydratase du phosphopyruvate, 4.2.1.11	279, 285
176 (26)	Hydrolyase du 5(6)-aminolévulinate, 4.2.1.24	422
177 (173)	L-3-Hydroxyacyl-CoA hydro-lyase , 4.2.1.17	311, 341
178	L-3-Hydroxyacyl-CoA : NAD oxydoréductase , 1.1.1.35	341
179 (91)	D-3-Hydroxybutyrate : NAD oxydoréductase , 1.1.1.30	333, 337
180 (119)	3-Hydroxybutyryl-CoA 3-épipimérase , 5.1.2.3	311
181 (293)	Hydroxyméthyltransférase de la sérine, 2.1.2.1	181
182 (242)	4-Hydroxylase de la phénylalanine, 1.14.3.1	400, 411
183	5-Hydroxy-L-tryptophane carboxy-lyase , 4.1.1.28	388
184 (122, 125)	<i>Invertase</i> , 3.2.1.26	95, 157, 161, 435
185 (92)	thréo-D₃-Isocitrate : NAD oxydoréductase , 1.1.1.41	304
186 (93)	thréo-D₃-Isocitrate : NADP oxydoréductase , 1.1.1.42	304
187 (139)	Isomérase du glucose-phosphate, 5.3.1.9	277
188 (210)	Isomérase du maléate, 5.2.1.1	184
189 (287)	Isomérase du ribose-phosphate, 5.3.1.6	366
190 (159)	Isomérase du triose-phosphate, 5.3.1.1	184, 278, 365
191 (39)	Kinase de l'aspartate, 2.7.2.4	419
192 (40)	Kinase du carbamate, 2.7.2.2	182
193 (41)	Kinase du déphospho-CoA, 2.7.1.24	445
194 (45)	Kinase du glycérol, 2.7.1.30	307
195 (50)	Kinase du nucléotide-diphosphate, 2.7.4.6	305
196 (51)	Kinase du 3-phosphoglycérate, 2.7.2.3	278, 283
197 (53)	Kinase de la phosphorylase, 2.7.1.38	284
198 (55)	Kinase du pyruvate, 2.7.1.40	279, 283
199 (56)	Kinase de la riboflavine, 2.7.1.26	444
200 (95)	L-Lactate : ferricytochrome c oxydoréductase , 1.1.2.3	181
201 (94)	L-Lactate : NAD oxydoréductase , 1.1.1.27	180, 280, 339
202 (233)	L-Lactate : oxygène oxydoréductase , 1.1.3.2	181
203 (22)	L-Leucyl-peptide hydrolase , 3.4.1.1	182
204 (264)	Lyase du pectate, 4.2.99.3	544
205	L-Lysine carboxy-lyase , 4.1.1.18	388
206 (126, 174)	L-Malate hydro-lyase , 4.2.1.2	183, 306, 528
207 (97)	L-Malate : NAD oxydoréductase , 1.1.1.37	306
208 (97)	L-Malate : NAD oxydoréductase , 1.1.1.38, 1.1.1.39	390
209 (97)	L-Malate : NADP oxydoréductase , 1.1.1.40	390
210 (188)	Maléate cis-trans-isomérase , 5.2.1.1	184
211 (212)	α -Mannosidase, 3.2.1.24	97
212 (211)	α -D-Mannoside mannohydrolase, 3.2.1.24	97
213 (217)	Méthylmalonyl-CoA CoA-carbonylmutase , 5.4.99.2	313
214 (25, 215)	Monoaminoxidase, 1.4.3.4	72, 377
215 (25, 214)	Monoamine : oxygène oxydoréductase , 1.4.3.4	72, 377
216 (243, 244)	Monoester orthophosphorique phosphohydrolase , 3.1.3.1, 3.1.3.2	281, 525
217 (213)	Mutase du méthylmalonyl-CoA, 5.4.99.2	313
218 (98, 281)	NAD réduit : (accepteur) oxydoréductase , 1.6.99.3	327, 530
219 (280)	NAD réduit : L-cystine oxydoréductase , 1.6.4.1	411
220 (96, 113)	NAD réduit : lipamide oxydoréductase , 1.6.4.3	301, 318
221 (282)	NADP réduit : ferrédoxine oxydoréductase , 1.6.99.4	360, 362
222	<i>Nitrogénase</i>	540
223 (313)	Nucléoside : purine (pyrimidine) désoxyribosyltransférase , 2.4.2.6	435, 443
224	Nucléoside : purine (pyrimidine) ribosyltransférase , 2.4.2.5	443
225	3'-Nucléotidase, 3.1.3.6	443

226	5'-Nucléotidase, 3.1.3.5	443
227	Nucléotidyltransférase du RNA, 2.7.7.6	481
228	L-Ornithine carboxy-lyase , 4.1.1.17	388
229 (61)	Orthophosphate : oxaloacétate carboxy-lyase , 4.1.1.31	307
230 (79)	Oxaloacétate carboxy-lyase , 4.1.1.3	183, 390
231	Oxydases des acides aminés, 1.4.3	374, 375, 397
231a (18a)	Oxydase de l'aldéhyde, 1.2.3.1	73
232 (76, 77, 121)	Oxydase du cytochrome, 1.9.3.1	315, 317, 325, 326, 327
233 (202)	Oxydase du lactate, 1.1.3.2	181
234 (278)	Oxydase du pyruvate, 1.2.3.3	219, 389
234a (324)	Oxydase de la xanthine, 1.2.3.2	73
235	Pectinase , 3.2.1.15	544
236 (237)	Pectinestérase , 3.1.1.11	544
237 (236)	Pectine pectyl-hydrolase , 3.1.1.11	544
238	Pepsine , 3.4.4.1	183
239 (66)	Peptidyl-L-amino-acide hydrolase , 3.4.2.1	182
240	Peptidyl peptide hydrolases , 3.4.4	545
241 (67)	Peroxyde d'hydrogène : peroxyde d'hydrogène oxydoréductase , 1.11.1.6	157, 327
242 (182)	L-Phénylalanine, tétrahydroptéridine : oxygène oxydoréductase , 1.14.3.1	400, 411
243 (216)	Phosphatase, acide , 3.1.3.2	281
244 (216)	Phosphatase, alcaline , 3.1.3.1	281, 525
245 (246)	Phosphatase du phosphatidate , 3.1.3.4	256
246 (245)	L-α-Phosphatidate phosphohydrolase , 3.1.3.4	256
247 (256)	Phosphatidylcholine cholinephosphohydrolase , 3.1.4.3	182
248 (114)	Phosphodiesterase , 3.1.4.1	480
249 (43)	Phosphofructokinase , 2.7.1.4	277
250 (136)	Phosphoglucomutase , 2.7.5.1	435
251 (64)	3-Phospho-D-glycérate carboxy-lyase , 4.1.1.39	364, 367
252 (175)	2-Phospho-D-glycérate hydro-lyase , 4.2.1.11	279, 286
253 (257)	D-Phosphoglycérate 2,3-phosphomutase , 5.4.2.1	184, 279
254 (117)	Phosphoglycéromutase , 2.7.5.3	279
255	O-Phosphohomoserine phospho-lyase , 4.2.99.2	413
256 (247)	Phospholipase C , 3.1.4.3	182
257 (253)	Phosphomutase du phosphoglycérate , 5.4.2.1	184, 279
258 (57)	Phosphoribulokinase , 2.7.1.19	364, 366
259 (134, 260)	Phosphorylase a , 2.4.1.1	283
260 (134, 259)	Phosphorylase de l'α-glucan , 2.4.1.1	283
261 (118)	Phosphorylase du saccharose , 2.4.1.7	435
262	Phosphosérine phosphohydrolase , 3.1.3.3	409
263	Polygalacturonase , 3.2.1.15	544
264 (204)	Poly-α,1,4-D-galacturonide lyase , 4.2.99.3	544
265 (106)	Polymérase du DNA , 2.7.7.7	478
266	Polymérase du RNA , 2.7.7.6	481
267	L-Proline : NAD(P) 2-oxydoréductase , 1.5.1.1	394
268	L-Proline : NAD(P) 5-oxydoréductase , 1.5.1.2	394
269 (62)	Propionyl-CoA : anhydride carbonique ligase (ADP) , 6.4.1.3	313
270	Protéinases , 3.4.4	545
271 (273)	Pyrophosphatase inorganique , 3.6.1.1	209, 523
272 (61)	Pyrophosphate : oxaloacétate carboxy-lyase , 4.1.1.38	307
273 (271)	Pyrophosphate phosphohydrolase , 3.6.1.1	209, 523
274 (49)	Pyrophosphorylase du NAD , 2.7.7.1	444
275 (63)	Pyruvate : anhydride carbonique ligase (ADP) , 6.4.1.1	185, 307
276 (103)	Pyruvate : ferricytochrome b_1 oxydoréductase , 1.2.2.2	389
277 (102)	Pyruvate : lipate oxydoréductase , 1.2.4.1	181, 300, 389
278 (234)	Pyruvate : oxygène oxydoréductase , 1.2.3.3	219, 389
279 (17)	Racémase de l'alanine , 5.1.1.1	184
280 (219)	Réductase de la L-cystine , 1.6.4.1	411
281 (98, 218)	Réductase du cytochrome c , 1.6.99.3	327, 530
282 (221)	Réductase de la ferrédoxine (NADP) , 1.6.99.4	360, 362
283	Rénine , 3.4.4.15	183
284 (285, 286)	Ribonucléase , 2.7.7.16, 2.7.7.17	480
285 (284)	Ribonucléate nucléotido-2'-transférase , 2.7.7.17	480
286 (284)	Ribonucléate pyrimidinenucléotido-2'-transférase , 2.7.7.16	480

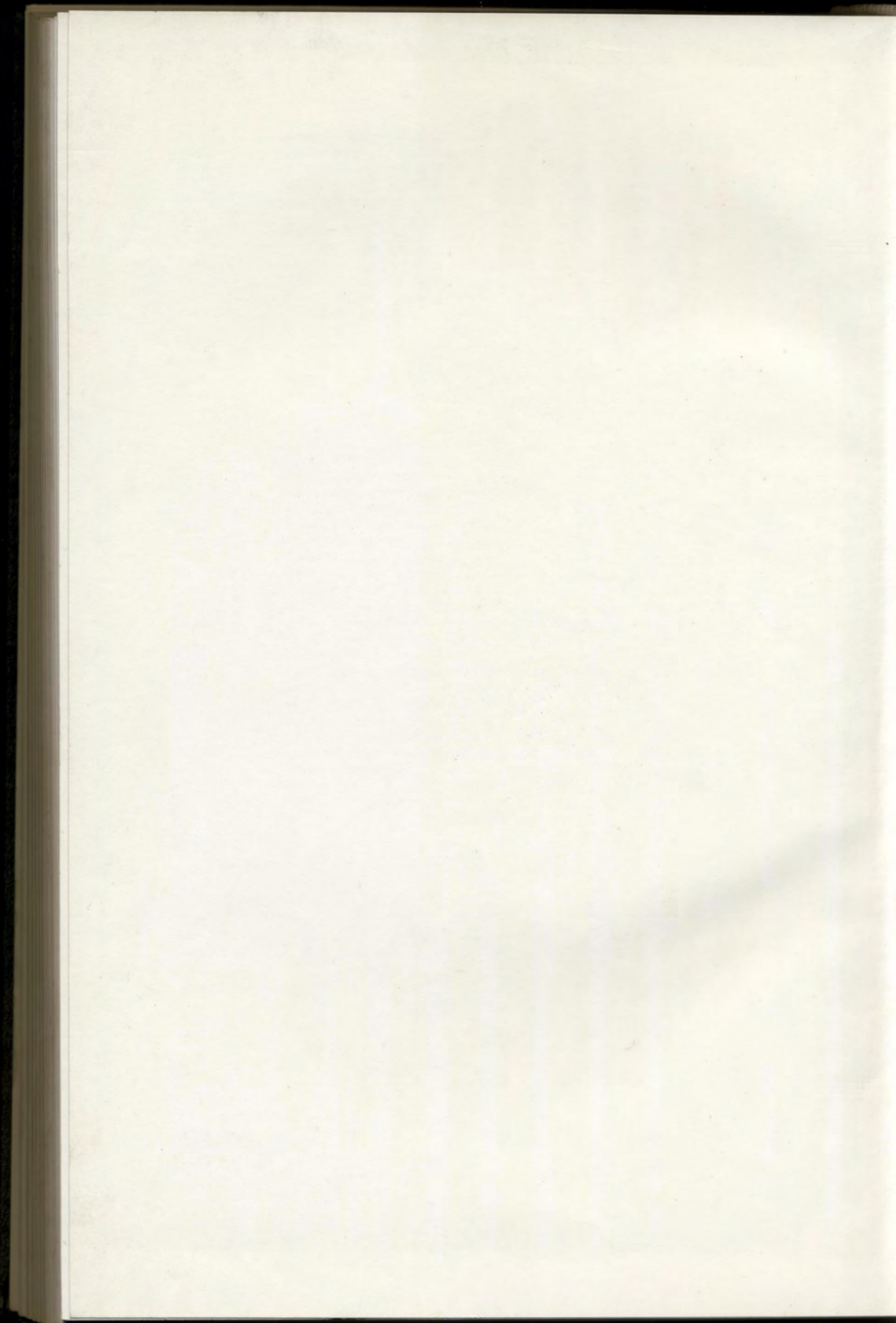
287 (189)	D-Ribose-5-phosphate céto-isomérase , 5.3.1.6	366
288 (120)	L-Ribulose-5-phosphate 3-épipérase , 5.1.3.1	288, 366
289 (310)	Sédoheptulose-7-phosphate : D-glycéraldéhyde-3-phosphate dihydroxyacétonetransférase , 2.2.1.2	288, 289, 364
290 (314)	Sédoheptulose-7-phosphate : D-glycéraldéhyde-3-phosphate glycolaldéhydetransférase , 2.2.1.1	288, 289, 364, 434
291 (304)	L-Sérine hydro-lyase (indole) , 4.2.1.20	415, 525
292 (84)	L-Sérine hydro-lyase , 4.2.1.13	376, 394
293 (181)	L-Sérine : tétrahydrofolate 5,10-hydroxyméthyltransférase , 2.1.2.1	181
294	Spermine : oxygène oxydoréductase , 1.5.3.3	377
295 (104)	Succinate : (accepteur) oxydoréductase , 1.3.99.1	306, 327, 360
296 (303, 306)	Succinate : CoA ligase (GDP) , 6.2.1.4	305
297 (312)	Succinyl-CoA : oxalate CoA-transférase , 2.8.3.2	182, 311
298 (307)	Sulfurtransférase du thiosulfate , 2.8.1.1	182
299 (1)	Synthétase de l'acétyl-CoA , 6.2.1.1	185
300 (6)	Synthétase de l'acyl-CoA , 6.2.1.2, 6.2.1.3	311
301 (148)	Synthétase de la glutamine , 6.3.1.2	185, 405
302 (81)	Synthétase du NAD , 6.3.5.1	444
303 (296, 306)	Synthétase du succinyl-CoA , 6.2.1.4	305
304 (291)	Synthétase du tryptophane , 4.2.1.20	415, 525
305 (320)	Synthétase du tyrosyl-sRNA , 6.1.1.1	184
306 (296, 303)	Thiokinase du succinate , 6.2.1.4	305
307 (298)	Thiosulfate : cyanure sulfurtransférase , 2.8.1.1	182
308	L-Thréonine acétaldéhyde-lyase , 4.1.2.5	398
309 (85)	L-Thréonine hydro-lyase , 4.2.1.16	376
310 (289)	Transaldolase , 2.2.1.2	288, 289, 364
311	Transférases du CoA , 2.8.3	311
312 (297)	Transférase de l'oxalyl-CoA , 2.8.3.2	182, 311
313 (223)	Trans-N-glucosidase , 2.4.2.6	435, 443
314 (290)	Transcétolase , 2.2.1.1	288, 289, 364, 434
315 (86)	1,1,1-Trichloro-2,2-bis-(p-chlorophényl)-éthane-acide chlorhy- drique-lyase , 4.5.1.1	184
316	Trypsine , 3.4.4.4	157, 161
317	L-Tryptophane carboxy-lyase , 4.1.1.27	388
318	L-Tryptophane : oxygène oxydoréductase , 1.13.1.12	403
319	L-Tyrosine carboxy-lyase , 4.1.1.25	387
320 (305)	L-Tyrosine : sRNA ligase (AMP) , 6.1.1.1	184
320a (120a)	UDPglucose 4-épipérase , 5.1.3.2	71
321 (147)	UDPglucose : β-1,4-glucan β-4-glucosyltransférase , 2.4.1.12	181
322 (323)	Urée amidohydrolase , 3.5.1.5	159, 183, 543
323 (322)	Uréase , 3.5.1.5	159, 183, 543
324 (234a)	Xanthine : oxygène oxydoréductase , 1.2.3.2	73











1000



109 326 B

ULg - C.I.C.B.



709501533

LIBER

