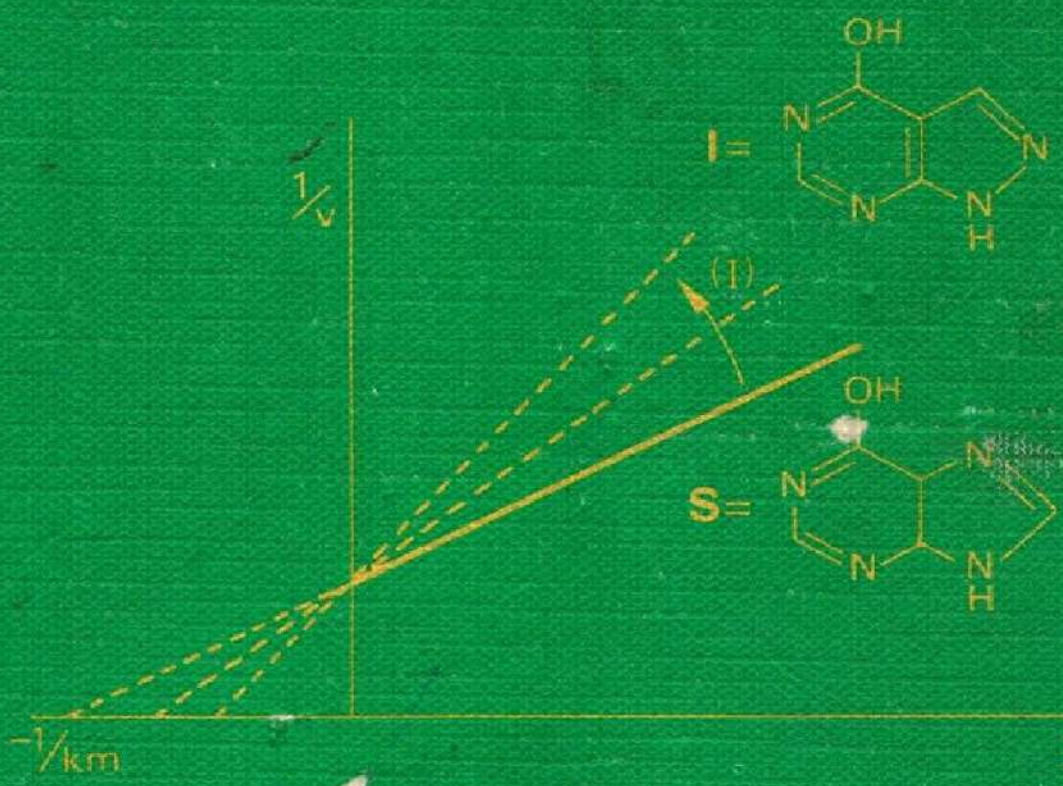
F. PERCHERON
R. PERLÈS
M.-J. FOGLIETTI

Abrégé de biochimie générale

tome 1
Bioénergétique . Protides
Enzymologie . Acides nucléiques

préface du Pr. J.-E. COURTOIS



MASSON

TABLE DES MATIÈRES

PRÉFACE VII

AVERTISSEMENT VII

CHAPITRE PREMIER. — *Introduction* 1

But et méthodes de la biochimie 1
Méthodes d'étude du métabolisme 2
Utilisation des organes isolés 2
Méthodes des coupes de tissu 2
Utilisation des broyats de tissu, homogénats et extraits cellulaires 2
Fractionnement des infrastructures cellulaires 3
Méthode manométrique de Warburg 3
Etude des métabolismes au moyen des mutants 3
Méthodes isotopiques 4

CHAPITRE 2. — *Notions de bioénergétique* 5

Le concept d'énergie libre 5
Relation entre ΔG et la constante d'équilibre d'une réaction. Mesure de ΔG 6
Réactions couplées 8
Composés « riches en énergie » 9
Phosphates riches en énergie 9
Composés à liaison pyrophosphate 9
Anhydrides mixtes carboxyliques-phosphoriques : acylphosphates 10
Esters phosphoriques d'énol 11
Phosphamides (phosphates de guanidinium) 11
Thioesters 12
Dérivés sulfonium 12
Nucléoside diphosphates-oses 12
« Hiérarchie » des composés riches en énergie 13

CHAPITRE 3. — *Protides ou protéides* 15

3-1 Amino-acides 16
Généralités 16
Nomenclature 16
Configuration. Pouvoir rotatoire 17
Propriétés physico-chimiques des amino-acides 17
Caractère ampholyte 17
Absorption dans l'ultraviolet 20

Propriétés chimiques des amino-acides 21
Propriétés dues à la fonction carboxylique 21
Formation des sels 21
Formation d'esters 21
Formation de chlorures d'acides 21
Réduction du carboxyle 21
Obtention de thiohydantoïnes 22
Décarboxylation 22
Propriétés dues à la fonction amine 22
Formation de sels avec les acides 22
Formation d'amides par acylation 22
Action du formaldéhyde et des aldéhydes 23
Action du phosgène 24
Action des isocyanates et isothiocyanates d'aryle 24
Action du dinitro-2,4 fluorobenzène (D.N.F.B.) 25
Combinaison avec l'acide trifluoracétique (Weygand) 26
Réactions de désamination 26
Formation de dérivés fluorescents 26
Propriétés dues à la présence simultanée des fonctions carboxyle et amine 26
Formation de chélates 26
Lactamisation 27
Désamination et décarboxylation simultanées 27
Propriétés particulières résultant de la présence de groupes fonctionnels supplémentaires 28
Carboxyle supplémentaire 28
Fonction amine supplémentaire 28
Fonction alcool 29
Fonction thiol 29
Fonction phénol 30
Autres propriétés particulières 30

3-2 Méthodes de séparation et d'analyses des amino-acides 30

Méthodes d'hydrolyse 30
Hydrolyse acide 30
Hydrolyse alcaline 30
Hydrolyse enzymatique 31
Purification de l'hydrolysat 31
Analyse de l'hydrolysat purifié 31
Chromatographie de partage sur papier 31
Chromatographie sur couches minces 31
Chromatographie sur colonnes échangeuses d'ions 31
Chromatographie en phase gazeuse 33
Autres méthodes 33
Méthodes générales de dosage des amino-acides 34
Dosage de l'azote total 34
Acidimétrie et alcalimétrie 34
Formol titration de Sörensen 34
Méthode à la ninhydrine 34
Dosage de la fonction amine primaire 34
Méthodes particulières de dosage de quelques amino-acides ... 35

Méthodes enzymatiques 35
Dosages microbiologiques 35

3-3 Peptides 36

Nomenclature 36
Propriétés physiques et chimiques des peptides 37
Propriétés particulières dues à la liaison peptidique 37
Réaction dite du biuret 37
Synthèse des peptides 38
Méthodes modernes 38
Protection du groupe aminé du premier amino-acide 38
Protection des groupes hydroxyles alcoolique et phénolique et du groupe thiol 38
Activation du carboxyle du premier amino-acide 38
Réaction de condensation ou de couplage 39
Elimination des groupes protecteurs 39
Méthode des N-carboxyanhydrides 39
Méthode en phase solide de Merrifield 39
Détermination de la structure des peptides 41
Détermination des amino-acides constitutifs 41
Détermination des groupes terminaux 41
Réactifs permettant l'identification de l'amino-acide C-terminal 41
Réactifs permettant l'identification de l'amino-acide N-terminal 42
Détermination de la séquence des amino-acides 42
Etude de quelques peptides naturels 43
Dipeptides 43
Tripeptides 43
Glutathion 43
Hormone hypothalamique 44
Pentapeptides 44
Nonapeptides 44
Ocytocine 44
Vasopressine 45
Bradykinine 45
Décapeptides 45
Hypertensine ou angiotensine 45
LH – RH 45
Hormones polypeptidiques 45
Hormones stimulant les mélanocytes (MSH) 45
Hormone adrénocorticotrope hypophysaire (ACTH) 46
Glucagon 46
Calcitonine 46
Hormone parathyroïdienne 46
Insuline 46
Endorphines 47
Somatostatine 48
Peptides antibiotiques 48
Protamines 49

3-4 Protéines 50

Structure des protéines 50
Structure primaire 50
Structure secondaire 50

Structure en feuillets plissés 52
Structure en hélice α 53
Structure tertiaire 55
Liaisons mises en jeu 55
Formation de la structure spatiale native d'une protéine 56
Structure quaternaire 56
Altération de la structure des protéines. Dénaturation 57
Propriétés physico-chimiques des protéines 58
Solubilité 58
Influence de la température 58
Influence du *p*H 58
Constante diélectrique du solvant 59
Influence des électrolytes 59
Applications des modifications de solubilité au fractionnement des protéines 60
Propriétés dues au caractère macromoléculaire 60
Détermination du poids moléculaire 60
Propriétés dues au caractère amphotère 64
Précipitation au point isoélectrique 65
Séparation par chromatographie sur échangeurs d'ions 65
Migration dans un champ électrique : électrophorèse 65
Fractionnement et purification des protéines 66
Isolement de l'ensemble des protéines 67
Fractionnement proprement dit du mélange protéique 67
Critères de pureté d'une protéine 68
Conservation des protéines 69
Principaux types de protéines 69
Scléroprotéines ou protéines fibrillaires 69
Fibroïne 69
Kératine 69
Collagène 69
L'élastine 70
Protéines contractiles des fibres musculaires 70
Tubuline 71
Protéines globulaires 71
Les histones 71
Protéines du sérum sanguin 71
Protéines du plasma sanguin. Fibrinogène 78

CHAPITRE 4. — ***Les enzymes*** 81

Généralités 81
Introduction 81
Localisation des enzymes 81
Variations physiologiques 83
Variations pathologiques 83
Notions sur les isoenzymes (isozymes) 83
Proenzymes ou zymogènes 83
Enzymes inductibles 84
Structure et spécificité des enzymes 85
Notion de site actif 85

Etude du site actif d'une enzyme 86
Conformation du site actif 87

Spécificité des réactions enzymatiques 89
Spécificité de réaction 89
Spécificité de substrat 89
Comparaison entre catalyseurs et enzymes. Énergie d'activation 90
Influence sur la vitesse de réaction 90
Mécanisme de la catalyse enzymatique 91

Eléments de cinétique enzymatique 92
Notion de combinaison enzyme-substrat 92
Influence de la concentration en enzyme sur la vitesse de réaction ... 93
Influence de la concentration du substrat sur la vitesse de réaction ... 93
Relation de Michaelis et Menten 93
Signification de K_m 95
Signification de V 96
Détermination expérimentale de K_m 96
Influence de la durée : vitesse de réaction en fonction du temps 98
Influence du *p*H sur les réactions enzymatiques 99
Influence de la température 100
Cinétique des réactions rapides 101

Effecteurs chimiques des réactions enzymatiques 101
Activateurs des réactions enzymatiques 101
Inhibiteurs 102
Inhibition par excès de substrat 102
Analogues structuraux du substrat 102
Inhibiteurs complexants 103
Inhibiteurs agissant de façon covalente sur la protéine enzymatique 103
Cinétique de l'inhibition enzymatique 103
Inhibitions irréversibles 103
Inhibitions réversibles 103

Réactions enzymatiques à deux substrats 106
Mécanismes à complexes exclusivement binaires 107
Réactions à complexes ternaires 107
Conditions à respecter pour la détermination des activités enzymatiques .. 108
Choix du substrat 109
*p*H de la réaction 109
Température de la réaction 109
Proportions entre enzyme et substrat, et durée de réaction 109
Notions sur la régulation des réactions enzymatiques 110
Régulation grâce à la compartimentation intracellulaire 110
Régulation par équilibre chimique 110
Contrôle par des modifications covalentes de protéines enzymatiques 110
Régulation par inhibition par un métabolite terminal 111
Régulation par allostérie 111

Enzymes immobilisées 113
Emploi de polysaccharides réticulés activés par le bromure de cyanogène 113
Emploi de matrices insolubles porteuses de bras d'espacement.. 113

Nomenclature des enzymes *114*

CHAPITRE 5. — ***Coenzymes et groupes prosthétiques*** 116

Coenzymes et vitamines *116*

Coenzymes des oxydo-réductases 117
Coenzymes nicotiniques ou nucléotides pyridiniques 117
Structure du NAD *117*
Propriétés spectrales *118*
Spécificité 119
Structure et propriétés du NADP 120
Rôle des coenzymes pyridiniques 120
Coenzymes flaviniques ou nucléotides flaviniques 120
Structure 120
Propriétés 122
Ubiquinones ou coenzymes Q 122
Rôle 123
Acide lipoïque ou thioctique 123
Groupes prosthétiques des enzymes ferroporphyriniques 124
Autres ferroporphyrines enzymatiques 124

Coenzymes des transférases 125
Acide adénosinetriphosphorique (ATP) et autres nucléosides triphosphates 125
Transfert d'un groupe orthophosphorique et libération d'ADP 126
Transfert d'un groupe phosphorique 127
Transfert de l'AMP sur un accepteur 127
Transfert du reste adénosyle 127
Autres nucléosides triphosphates 127
Coenzyme A d'acylation (CoA) 128
Rôle 128
Mécanisme des réactions engageant les acyl CoA 129
Acide tétrahydrofolique 130
Rôle de coenzyme 130
Biotine 132
Rôle de coenzyme 132
Diphosphate de thiamine 133
Structure et propriétés 133
Rôle de coenzyme 134
Phosphate de pyridoxal 135
Principales réactions enzymatiques impliquant le phosphate de pyridoxal 136
Coenzymes des hydrolases 136
Coenzymes des lyases 136
Coenzymes des isomérases 136
Coenzymes des ligases 137

CHAPITRE 6. — *Acides nucléiques* 138

Généralités 138

Structure des acides nucléiques 139

Constituants des acides nucléiques 140
Corps formés par hydrolyse totale 140
Bases azotées 140
Oses 142
Corps formés par hydrolyse partielle 143
Nucléosides 143
Nucléotides 144
Structure covalente des acides nucléiques 148
Composition en bases des acides nucléiques 148
Séquence de bases 149
Hydrolyse partielle des acides nucléiques 150
Fractionnement des oligonucléotides 151
Étude de la structure des oligonucléotides 151
Méthode de synthèse synchrone (Billeter) 153
Analyse de la fréquence du plus proche voisin 153
Structure tridimensionnelle du DNA 153
Modèle de Watson et Crick 154
Dimensions des molécules de DNA 156
État du DNA dans les cellules 157
Propriétés physico-chimiques du DNA 157
Viscosité 157
Absorption dans l'ultraviolet 157
Effet hyperchrome 158
Hybridation 158
Possibilité de formation de complexes d'intercalation 158
Rôle biologique du DNA 159
Manipulations génétiques 159
Structure des RNA 160
Structure tridimensionnelle 160
Différentes classes de RNA 161
RNA de transfert 161
RNA ribosomiques 163
RNA messager 163
Acides nucléiques des virus 163

Biosynthèse des acides nucléiques 164

Biosynthèse des nucléotides 164
Origine des oses 164
Biosynthèse des ribonucléotides puriques 165
Formation de l'AMP et du GMP à partir de l'IMP 167
Formation des ribonucléoside triphosphates-5' 167
Régulation de la biosynthèse des ribonucléotides puriques 167
Utilisation des purines préformées 168
Biosynthèse des ribonucléotides pyrimidiques 169
Formation de l'UTP et du CTP 169
Régulation de la biosynthèse des ribonucléotides pyrimidiques 170

Biosynthèse des désoxyribonucléotides 171
Biosynthèse du désoxythymidylate (dTTP) 171
Biosynthèse du DNA. Réplication 172
Mécanisme de la réplication 173
DNA-polymérase I 173
DNA-polymérase II 174
DNA-polymérase III 174
DNA-ligase 175
Autres facteurs intervenant dans la réplication 175
Hypothèse pour la réplication du DNA 176
Réplication du DNA chez les eucaryotes 178
Réparation du DNA 178
Transcriptase réserve 179
Biosynthèse des RNA 179
RNA-polymérase DNA dépendanté (transcriptase) 179
Transcription du DNA à double brin 180
Inhibition de la transcription 181
RNA-polymérase RNA dépendante (réplicase) 182
Polynucléotide phosphorylase 182

Catabolisme des acides nucléiques 183
Catabolisme des bases pyrimidiques 183
Catabolisme des bases puriques 184

CHAPITRE 7. — ***Biosynthèse des protéines*** 187

Activation des amino-acides. Formation des amino-acyl-t-RNA 187
Activation de l'amino-acide 187
Formation de l'amino-acyl-t-RNA 188

Traduction. Mise en place des amino-acides 189
RNA messagers 189
Ribosomes 191
Différentes étapes de la biosynthèse des protéines 192
Mécanisme de la traduction 193
Initiation 193
Élongation 194
Terminaison 196
Bilan énergétique de la synthèse protéique 197
Biosynthèse protéique chez les eucaryotes 197

Code génétique 198
Nature trinucléotique du codon 198
Déchiffrage du code génétique 199
Caractères généraux du code génétique 200
Validité du code génétique 201
Conséquences des mutations sur la structure et les fonctions des protéines 201

Inhibiteurs de la synthèse protéique 201

Régulation de la biosynthèse des protéines 203
Contrôle de l'expression génétique. L'opéron 203
Régulation chez les eucaryotes 205

CHAPITRE 8. — ***Catabolisme des protéines*** 206

Digestion et absorption des protéines. Les protéases 206
Digestion des protéines 206
Les protéases 206
Mécanismes de la protéolyse (Tiselius) 207
Classification des protéases 207
Protéases gastriques 207
Pepsine 207
Rennine 207
Protéases des sucs pancréatique et duodénal 208
Trypsinogène et trypsine 208
Chymotrypsinogène et chymotrypsine 209
Élastase 210
Comparaison des sérine-protéases pancréatiques 210
Autres protéases ne participant pas normalement à la digestion 210
Carboxypeptidases pancréatiques A et B 211
Digestion des peptides au niveau de la bordure en brosse. Absorption intestinale des produits d'hydrolyse 211
Le besoin azoté. Les amino-acides indispensables 211
Balance azotée 212
Carence protéique 212
Convertibilité des amino-acides 213

CHAPITRE 9. — ***Métabolisme des amino-acides*** 214

Processus généraux de dégradation 214
Mécanisme d'intervention du phosphate de pyridoxal 214
Décarboxylation 214
Transamination 216
Modification avec départ du radical R 218
Désaminations 218
Désamination oxydante ou oxydative 218
Les amino-acides oxydases 218
Désamination hydrolytique 219
Désamination déshydratante 219
Désamination désulfurante 219
Désamination avec création d'une double liaison 219
Désamination avec oxydo-réduction 219
Désamination hydrolytique avec décarboxylation 219
Désaminations complexes microbiennes 219

CHAPITRE 10. — ***Étude individuelle du métabolisme des amino-acides*** 220

Groupe de la glycine, de l'alanine, de la sérine et de la thréonine 220
Glycine 221
L-α-alanine 221
β-alanine 222
L-sérine 222
L-thréonine 222

Groupe des diacides monoaminés 222

Groupe des amino-acides générateurs d'acide glutamique : arginine, proline, hydroxyproline, histidine, lysine 223
Arginine 223
Proline et hydroxyproline 224
Histidine 224
Lysine 225

Amino-acides à chaîne ramifiée : valine, leucine, isoleucine 227

Amino-acides soufrés : cystéine et méthionine 227
Cystéine 227
Méthionine 228
Transméthylation 228
Origine des groupes méthyle 230
Transsulfuration 230

Amino-acides aromatiques phénylalanine et tyrosine 231
Passage aux autres dérivés aromatiques 231

Tryptophanne 233
Conservation du noyau indolique 233
Hydroxylation du noyau indolique 235
Passage aux dérivés quinoléiques 235
Passage au noyau pyridinique 235

CHAPITRE 11. — ***Destinée de l'azote des amino-acides*** 236

Les formes d'élimination de l'ammoniaque chez les animaux 237
Rôle de la glutamine 237

Mécanisme de l'uréogenèse 237
Synthèse du carbamylphosphate 237
Synthèse de la citrulline 239
Passage de la citrulline à l'acide arginosuccinique 239
Scission de l'acide arginosuccinique 239
Hydrolyse de l'arginine 239
Bilan de l'uréogenèse 240

INDEX ALPHABÉTIQUE DES MATIÈRES 241