

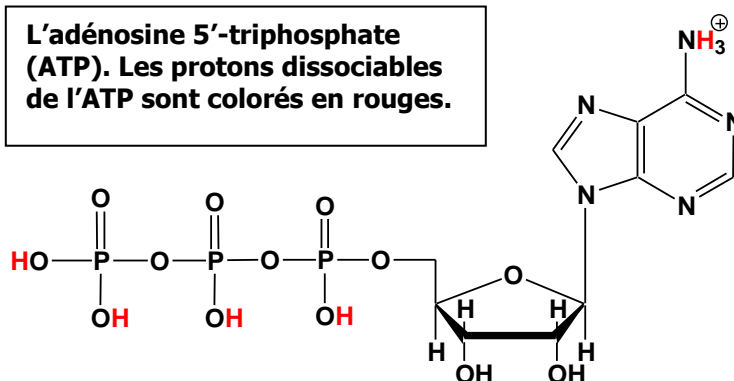
Complexité des équilibres dans l'hydrolyse de l'ATP

Jusqu'à présent, les hydrolyses de l'ATP ou des autres dérivés phosphorylés à haut potentiel ont été représentées sous forme de processus assez simples. Dans les systèmes biologiques, la situation est bien plus complexe du fait de la présence de plusieurs espèces ioniques dans les équilibres réactionnels. Premièrement, l'ATP, l'ADP et les autres molécules du tableau (page 9 des notes précédentes) peuvent se présenter sous différents états d'ionisation dont il faut tenir compte pour toute analyse quantitative. Deuxièmement, les substances phosphorylées lient divers cations divalents et monovalents avec une affinité plutôt élevée et ces divers complexes métalliques doivent être inclus dans de telles analyses. Les analyses quantitatives ainsi conduites donnent des résultats plus proches de la réalité biologique. L'importance de la multiplicité des équilibres dans les réactions de transfert de groupe sera illustrée par l'hydrolyse de l'ATP, mais les principes présentés sont généraux, ils peuvent être appliqués à toutes les réactions d'hydrolyse similaires.

Les multiples états d'ionisation de l'ATP et effets du pH sur ΔG° d'hydrolyse

L'ATP a cinq protons dissociables. Trois de ces protons de la chaîne triphosphate se dissocient à très bas pH. Le groupe amino du cycle purique a un pK_a de 4.06 et le dernier proton de la chaîne triphosphate à se dissocier à un pK_a de 6.95. À pH plus élevé, l'ATP est complètement déprotonée. L'ADP et l'acide phosphorique ont également de multiples états d'ionisation. Ces ionisations multiples font que la constante d'équilibre de l'ATP est bien plus complexe que la simple expression représentée par

L'adénosine 5'-triphosphate (ATP). Les protons dissociables de l'ATP sont colorés en rouges.



$$K_{eq} = \frac{[ATP]}{[ADP][P_i]}$$

Il faut aussi tenir compte de ces multiples possibilités d'ionisation quand on analyse l'effet du pH sur le ΔG° d'hydrolyse. Les calculs sont en dehors de ce cours; à titre indicatif, la variation d'énergie libre est pratiquement constante de pH 4 à pH 6. À des pH plus élevés, ΔG° augmente de façon linéaire, sa valeur devient plus négative de 5.7 kJ/mol pour chaque accroissement d'une unité de pH à 30°C. Puisque le pH de la plupart des tissus et fluides biologiques est voisin de la

neutralité, son effet sur $\Delta G^{\circ'}$ est relativement faible, mais il faut en tenir compte dans certaines situations.

Effets des ions métalliques sur la variation de l'énergie libre d'hydrolyse de l'ATP

Le plus souvent, les milieux biologiques contiennent de grandes quantités d'ions métalliques divalents et monovalents, Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , etc. Quels peuvent être les effets de ces ions métalliques sur les constantes d'équilibre de l'hydrolyse de l'ATP et sur les variations d'énergie libre qui sont associées.

La variation de $\Delta G^{\circ'}$ à 30°C et pH 7.0 en l'absence de Mg^{2+} est de -35.7 kJ/mol, à 5mM de Mg^{2+} libre, ΔG°_{obs} est d'environ -31 kJ/mol. Ainsi, dans la plupart des environnements biologiques (pH voisin de 7 et concentration de Mg^{2+} de 5mM ou plus), la variation d'énergie libre dans l'hydrolyse de l'ATP est plus influencée par les ions métalliques divalents que par les protons. La valeur « consensuelle », largement utilisée, de ($\Delta G^{\circ'}$ pour l'hydrolyse de l'ATP dans les systèmes biologiques est de **-30.5 kJ/mol** (Tableau 3.3). Cette valeur citée dans *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology* (3rd ed., 1976., *Physical and Chemical Data*, Vol. 1, pp. 296-304, Boca Raton, FL : CPC Press) fut déterminée en présence d'un « excès d'ions Mg^{2+} ».

Effets de la concentration sur l'énergie libre d'hydrolyse de l'ATP

Au cours de tous les calculs concernant les effets du pH et des ions métalliques sur l'équilibre de l'hydrolyse de l'ATP, les concentrations de toutes les espèces, sauf les protons, étaient « standard ». Mais dans la vie, les concentrations de l'ATP et des autres molécules à haut potentiel énergétique sont bien loin d'approcher celle de l'état standard, 1 M. Dans la plupart des cellules, les concentrations de ces molécules sont plutôt comprises entre 1 et 5 mM, et même moins. Les effets de la concentration sur les constantes d'équilibre et les variations d'énergie libre peuvent être décrits par cette équation:

$$\Delta G = \Delta G^{\circ} + RT \ln \frac{[\sum ADP][\sum P_i]}{[\sum ATP]}$$

dans laquelle les termes entre crochets représentent la somme (\sum) des concentrations de toutes les formes ioniques de l'ATP, de l'ADP et de P_i .

Il est évident que tout changement dans la concentration de ces diverses espèces peut avoir de grandes conséquences sur ΔG . Dans un environnement biologique réel, les concentrations de l'ATP, de l'ADP et de P_i peuvent varier indépendamment les unes des autres; mais pour faciliter les calculs, nous admettons que les trois concentrations sont égales.

La variation d'énergie libre de l'hydrolyse de l'ATP, qui est de -35.7kJ/mol à 1 M , devient -49.4 kJ/mol à 5 mM . Pour 1mM d'ATP, d'ADP et de P_i , la variation d'énergie libre est encore plus négative, sa valeur est de -53.6 kJ/mol . *Il est évident que, dans les conditions physiologiques, les effets de la concentration sont bien plus prononcés que les effets des protons et des ions métalliques.*

L'effet « concentration » peut-il modifier la position de l'ATP dans la hiérarchie des molécules à haut potentiel énergétique? La réponse est non. Toutes les autres substances phosphorylées, à haut ou bas potentiel énergétique, subissent dans les conditions physiologiques des changements de concentration similaires et donc, des changements similaires de la variation d'énergie libre d'hydrolyse. Les rôles des molécules à très haut potentiel d'hydrolyse (PEP, 1,3-bisphosphoglycérate, et créatine-phosphate) dans la synthèse et le maintien de la concentration de l'ATP cellulaire seront précisés dans les séquences métaboliques dispensées dans ce cours.

Quantité quotidienne d'ATP consommée par un organisme humain adulte

La consommation métabolique quotidienne d'ATP par un organisme humain est surprenante et impressionnante. Supposons qu'un adulte consomme en moyenne $11,700\text{ kJ}$ ($2,800\text{ kcal}$, ou $2,800\text{ Calories}$) par jour. Supposons également que les séquences métaboliques aboutissant à la synthèse d'ATP ont un rendement thermodynamique d'environ 50% . Donc, des $11,700\text{ kJ}$ ingérés chaque jour sous forme d'aliments, $5,850\text{ kJ}$ se retrouvent dans de l'ATP synthétisée (à partir d'ADP + P_i). Nous venons de voir que l'hydrolyse d'une mole d'ATP produit environ 50 kJ d'énergie libre dans les conditions prévalant dans les cellules. Cela signifie que l'organisme peut produire (et utiliser) 117 moles d'ATP chaque jour à partir d'ADP + P_i . Le sel disodique de l'ATP a une masse moléculaire de 551 g/mol donc une personne hydrolyse en moyenne

$$551 \times 117 = 64,467\text{ g d'ATP}$$

Un adulte d'environ 70 kg consomme donc près de 65 kg d'ATP chaque jour, presque l'équivalent de son propre poids! Heureusement, nous disposons d'un système de recyclage ATP/ADP extrêmement efficace. L'énergie fournie par les aliments n'est que transitoirement mise en réserve dans l'ATP. Lorsque l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP est utilisée, le métabolisme intermédiaire de notre organisme recycle l'ADP et le P_i en ATP. Un corps humain de 70 kg contient environ 50 grammes du total ADP + ATP. Chacune des molécules d'ATP de notre corps est donc quotidiennement recyclée près de $1,300$ fois! Si tel n'était pas le cas, notre « dépendance » de l'ATP au tarif commercial dépasse $15\text{ \$}$ le gramme nous coûterait plus de $1,000,000\text{ \$}$ par jour!