UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Archive ouverte UNIGE
https://archive-ouverte.unige.ch

Rapport de recherche 1985

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Le fructose 2,6-bisphosphate

Degli Agosti, Robert

How to cite

DEGLI AGOSTI, Robert. Le fructose 2,6-bisphosphate. 1985

This publication URL: https://archive-ouverte.unige.ch/unige:43545

© This document is protected by copyright. Please refer to copyright holder(s) for terms of use.

UNIVERSITE DE GENEVE
Département de Biologie végétale
Laboratoire de Physiologie végétale

FACULTE DES SCIENCES
Prof. H. GREPPIN
Dr. M. BONZON

LE FRUCTOSE 2,6-BISPHOSPHATE

ROBERTO DEGLI AGOSTI

DE

GENEVE

Genève, 1985

TABLE DES MATIERES

	Page
1. INTRODUCTION GENERALE (PARTIE ANIMALE)	1
2. DECOUVERTE DU F2,6P2	4
3. REGULATION DU NIVEAU DE F2,6P2	7
4. REGULATION DES ACTIVITES ENZYMATIQUES PAR LE F2,6P2	13
4.1 Activation de la 6-phosphofructo-1-kinase (PFK)	13
4.2 Inhibition de la fructose 1,6 bisphosphatase (FBP)	18
5. PROPRIETES DE LA 6 PHOSPHOFRUCTO 2-KINASE FRUCTOSE 2,6 BISPHOSPHATASE	19
6. DISCUSSION	23
7. ROLE DU F2,6P2 CHEZ LES VEGETAUX	27
7.1 Régulation du niveau de F2,6P2 chez les plantes	29
7.2 Régulation des activités enzymatiques par le F2,6P2	33
7.2.1 Inhibition de la fructose 1,6 bisphosphatase cytoplasmique	33
7.2.2 Activation de pyrophosphate-6 phosphofructokinase (PFP ou PPi-PFK)	35
7.2.3 Activation de l'UDP-Glc phosphorylase	39
7.2.4 Inhibition de la 6 phosphogluconate déhydrogénase	41
7.3 Propriétés de la PFK2/FBP2	43
8. CONCLUSION	47
9. BIBLIOGRAPHIE	49
9.1 Références chapitres 1 à 6; partie animale	49
9.2 Références chapitres 7 à 8; partie végétale	56

1 INTRODUCTION GENERALE

Chez l'homme à jeûn, la concentration normale du glucose dans le sang est de 80 à 100mg/100ml. Après un repas contenant des sucres cette teneur augmente temporairement jusqu'à 120-140mg/100ml. Cependant, même après un jeûne de 24 heures cette concentration se situe entre 60 et 70mg/ml (Keele et Neil, 1971 p. ex.).

En fait, le glucose sanguin ne descend normalement pas au-dessous de 60mg/100ml, même avec un régime pauvre en sucres, car le corps doit assurer la distribution d'énergie indispensable au bon fonctionnement du cerveau. L'hypoglycémie est de ce point de vue aussi dangeureuse qu'un manque d'oxygène. En revanche, l'hyperglycémie qui provoque une glycosurie (glucose dans l'urine) est un gaspillage, mais n'est pas autrement dangeureuse.

La concentration de glucose dans le sang est à tout instant le reflet de l'équilibre dynamique entre le glucose entrant et celui quittant (consommation) la circulation sanguine. De très nombreux facteurs contribuent aux processus homéostasiques qui maintiennent le niveau de glucose constant dans ces étroites limites.

Les produits de la digestion tels les sucres (glucose, fructose, galactose) sont acheminés par la veine porte vers le foie où ils sont captés, transformés en glucose, stockés et redistribués, suivant les besoins, dans la circulation sytémique pour aboutir aux organes consommateurs: le cerveau, les muscles, les tissus adipeux, les glandes secrétrices etc... Le foie est donc l'organe essentiel qui gère le niveau de glucose sanguin (Keele et Neil, 1971, p. ex.).

Si le glucose sanguin est plus élevé que la normale, alors le foie "consomme" l'excès de glucose et le stocke sous forme d'un polymère de glucose: le glycogène (glycogénèse) ou/et le transforme en lipides (glycolyse + lipogénèse). Inversement, lorsque le glucose sanguin est trop bas, le foie "déverse" du glucose dans la circulation. Ce sucre

GLUCONEOGENESE GLYCOLYSE GLYCOGENOLYSE GLYCOGENES

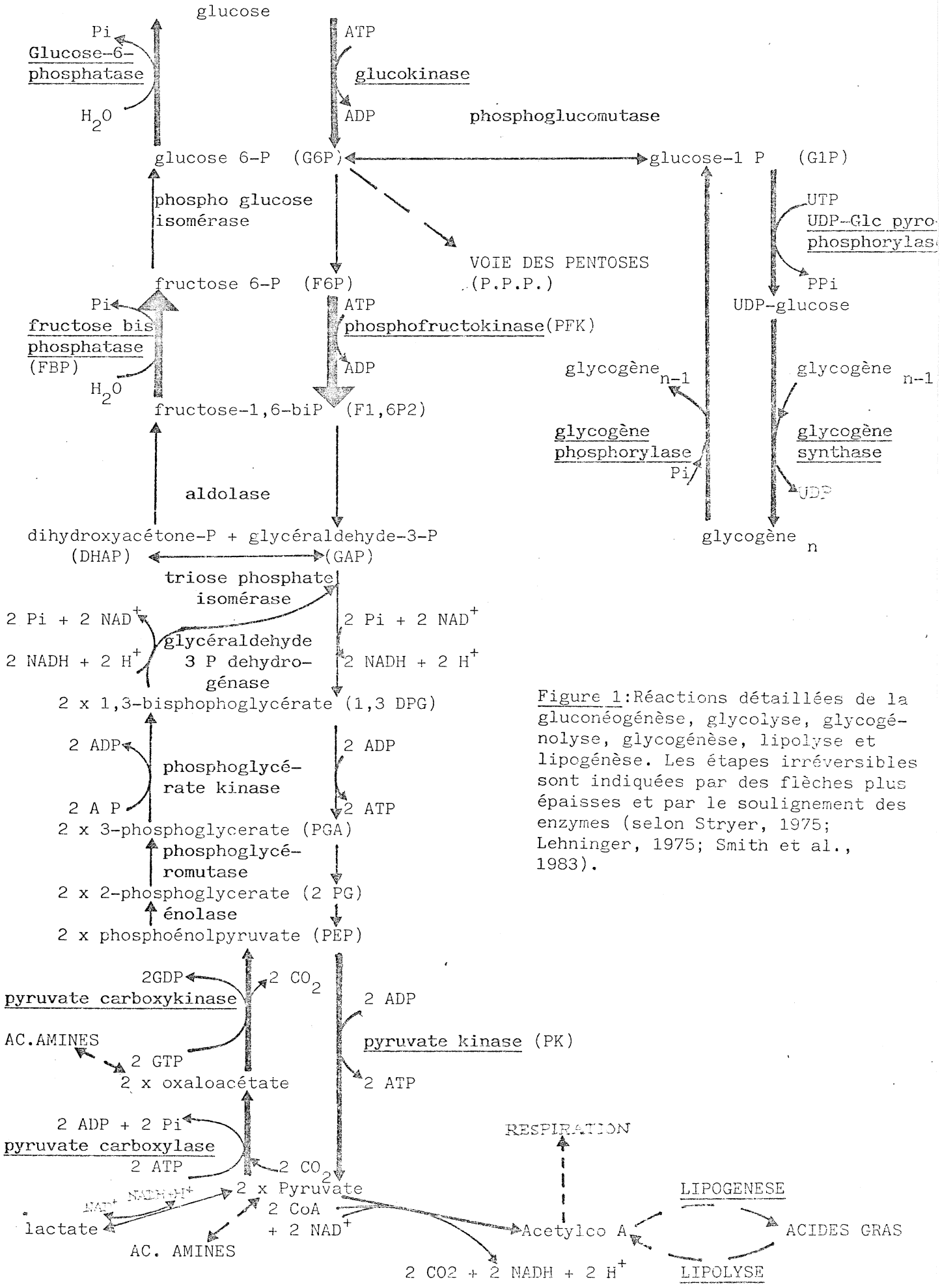

Figure 1: Réactions détaillées de la gluconéogénèse, glycolyse, glycogénolyse, glycogénèse, lipolyse et lipogénèse. Les étapes irréversibles sont indiquées par des flèches plus épaisses et par le soulignement des enzymes (selon Stryer, 1975; Lehninger, 1975; Smith et al., 1983).

étant alors produit par l'hydrolyse du glycogène (glycogénolyse) ou/et par gluconéogénèse (synthèse de glucose à partir de lipides, d'acides aminés et d'acides organiques).

L'homéostasie du glucose est sous la dépendance d'une part, de la concentration absolue de ce sucre dans le sang qui diffusera librement selon le gradient physico-chimique dans le foie où il sera capté par transformation en glucose 6-phosphate (glucokinase) imperméable aux membranes des cellules hépatiques, et, d'autre part, via des hormones relâchées dans le sang par des organes sécréteurs. Ces substances ont une action au niveau du métabolisme du foie et d'autres organes.

La glycogénèse et la glycogénolyse d'une part, de même que, d'autre part, la glycolyse (catabolisme du glucose) et la gluconéogénèse (anabolisme du glucose) possèdent les mêmes réactions enzymatiques réversibles (fig. 1). La direction nette des flux est contrôlée par les réactions enzymatiques irréversibles (une pour la glycogénèse - glycogénolyse et 3 pour la glycolyse - gluconéogénèse). Ces réactions irréversibles sont les cibles intracellulaires privilégiées des actions moléculaires des hormones régulatrices du métabolisme du glucose.

L'insuline est une hormone peptidique qui est relâchée par les cellules β du pancréas. Elle augmente la perméabilité du glucose vers les muscles et les tissus adipeux, dans le foie elle favorise: l'accumulation de glycogène (glycogénèse), la glycolyse, la lipogénèse et la synthèse des protéines. Cette hormone est sécrétée pour abaisser le taux de glucose sanguin et pour favoriser la pénétration de ce sucre dans les tissus consommateurs autres que le foie. Elle possède una action dite hypoglycémiante (Turner et Bagnara, 1976, Moore, 1976, p. ex.).

Le glucagon est également une hormone peptidique relâchée aussi par le pancréas, mais par les cellules α . Son action est moins générale que celle de l'insuline et est antagoniste à cette dernière. Le glucagon agit sur le foie pour accélérer dans un premier temps (minutes) la

glycogénolyse et dans un second temps (heures) la gluconéogénèse. Cette hormone augmente la lipolyse dans les tissus adipeux et le foie. Son action est hyperglycémiante (Turner et Bagnara, 1976, p. ex.).

Ces deux hormones possèdent des récepteurs sur la membrane plasmique et agissent à l'intérieur des cellules via des messagers scondaires (amp cyclique: cAMP, voir Stryer,1975, Lehninger, 1975, p. ex.).

Si le mécanisme moléculaire de l'effet du glucagon via le cAMP sur la glycogénolyse dans le foie est relativement bien connu, de même que son action inhibitrice sur une étape de la glycolyse (pyruvate kinase; voir Pilkis et al., 1982, Smith et al.,1983), les modalités moléculaires avec lesquelles le glucagon augmente la gluconéogénèse sont restées très obscures jusqu'en 1980-1981, date de la découverte du fructose-2,6-bisphosphate (F2,6P2).

2 DECOUVERTE DU FRUCTOSE 2,6 BISPHOSPHATE

Vers 1980, il y avait 17 ans que l'on savait des travaux de Schimassek et Mitzkat (1963), que le glucagon augmentait la gluconéogénèse à partir de lactate dans des préparations de foie isolé. En 1978, Engström avait proposé une explication de ce phénomène à partir de l'inactivation de la pyruvate kinase par phosphorylation de cette dernière par une protéine kinase cAMP-dépendante. Le glucagon agit grâce au messager secondaire intracellulaire que constitue le cAMP pour inhiber la pyruvate kinase et augmenter ainsi le flux gluconéogénétique via la pyruvate carboxylase et la pyruvate carboxykinase (cf. fig. 1).

Toutefois, un point obscur restait à éclaircir au niveau du cycle fructose 1,6-bisphosphate (F1,6P2)/ fructose 6-phosphate (F6P) avec les enzymes 6-phosphofructo 1-kinase (PFK) et fructose 1,6-bisphophatase (FBP). En effet, suivant les calculs de Reinhart et Lardy (1980) qui se fondaient sur les concentrations intracellulaires

connues de tous les effecteurs de la PFK, cette enzyme possédait une affinité apparente (Km) pour son substrat (F6P) de 6mM, or la concentration de ce dernier n'excède que rarement 0.06mM (Lawson et al., 1976). En fait cela revenait à dire que la glycolyse dans le foie ne pouvait fonctionner! Ceci était bien évidemment contraire aux observations expérimentales qui montraient l'existence d'un flux glycolytique de l'ordre de 0.6 à 0.9 µ moles de glucose consommé par minute et par gramme de foie (Soball et al., 1978). De plus, de nombreux groupes de chercheurs observaient que lorsque les hépatocytes étaient incubés avec des doses physiologiques de glucagon (environ 10nM), l'activité de la PFK était inhibée dans les extraits bruts (Pilkis et al., 1979; Castano et al., 1979; Clarke et al., 1979; Kagimoto et Uyeda, 1979; voir fig. 2).

Dans ces conditions deux possibilités étaient envisageables: soit il s'agissait d'une modification covalente de la PFK et/ou il existait un effecteur soluble.

C'est la première hypothèse qui a d'abord trouvé la faveur des chercheurs (groupe Castano et al. qui ne réapparaîtra plus vraiment à partir de cette date, groupe Uyeda et, enfin, groupe Claus-Pilkis qui furent parmi les premiers à modifier leur attitude).

La modification covalente de choix à cette époque était la phosphorylation des protéines, Kagimoto et Uyeda (1979) ont montré l'existence d'une incorporation active de ^{32}P dans la PFK, cette incorporation paraissant être corrélée avec une inhibition de l'activité de cette enzyme (Kagimoto et Uyeda, 1980). De même pour Claus et al. (1980) qui devaient se raviser assez vite, puisque dans la même année (Claus et al., 1980a), impliquaient l'existence d'un effecteur soluble à faible poids moléculaire. En même temps le groupe belge (van Schaftingen et al. 1980,1980a) montrait aussi qu'il s'agissait d'un effecteur soluble et furent les premiers grâce à des techniques simples, à proposer la structure de ce nouvel activateur de la PFK comme étant le F2,6P2 (van Schaftingen, 1980a). Cet activateur disparaît lorsque les hépatocytes sont incubés avec du glucagon.

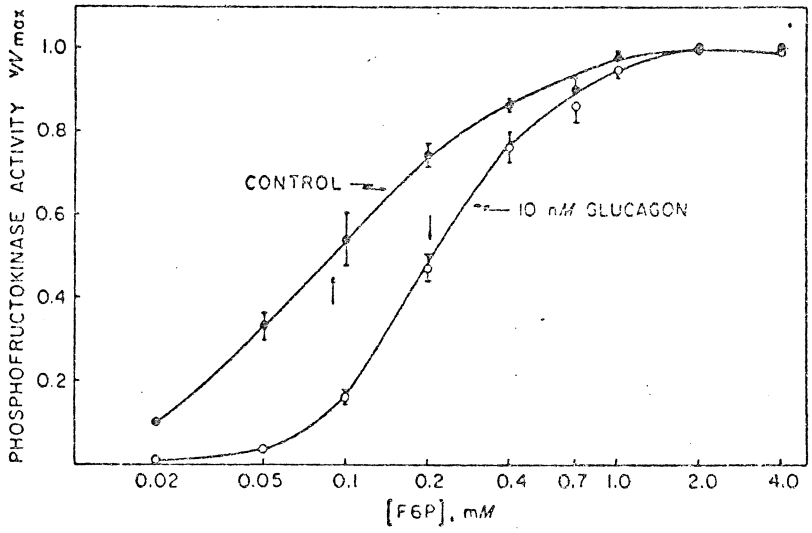

Figure 2: Activité 6 phosphofructokinase en fonction de la concentration de fructose 6-phosphate (F6P) dans des extraits d'hépatocytes provenant de rats normalement nourris. Les hépatocytes sont incubés pendant 10 minutes en présence (o) ou sans (●) 10 nM de glucagon. Les flèches représentent le $So_{.5}$ (Km) pour le F6P qui vaut 0.09 mM en absence de glucagon et 0.20 mM en présence de cette hormone. D'après Pilkis et al., (1979).

L'identification est fondée sur le fait que le poids moléculaire est identique au F1,6P2, mais qu'il ne s'agit pas de ce dernier, car l'effecteur est insensible à la fructose 1,6-bisphophatase. Cette substance est très labile en solution acide faible où elle relâche stoechiométriquement du F6P et du phosphate inorganique (Pi) tout en libérant une extrémité réductrice (fig. 3). Finalement ce groupe synthétisa du F2,6P2 artificiel qui avait les mêmes propriétés que l'effecteur proposé (fig.4). Les autres groupes se rallièrent aussi au fait que l'inhibition de l'activité de la PFK par le glucagon était essentiellement due à l'absence d'un effecteur positif soluble (activateur), ils montrèrent que sa structure "définitive" était bien du F2,6P2 (fig. 5) par spectroscopie (Pilkis et al., 1981) et par r. m. n. 13C et 31P (Pilkis et al., 1981; Hesbain-Frisque et al., 1981; Uyeda et al., 1981).

Le F2,6P2 se révéla vite être le plus puissant et le plus important des activateurs de la PFK des hépatocytes (cf. plus loin).

3 REGULATION DU NIVEAU DE F2,6P2

Le rôle physiologique du F2,6P2 est clairement suggéré par la nette dépendance de la concentration de ce dernier suivant différentes situations physiologiques (jeûne ou nutrition abondante) dans lesquelles le métabolisme des sucres (glycolyse, gluconéogénèse) est modifié en conséquence.

La concentration de F2,6P2 dans le foie est de l'ordre du micro-molaire. Chez des rats à jeûn depuis 24h., le F2,6P2 hépatique diminue de 80 à 90% (Pilkis et al., 1982a). L'adjonction de doses élevées de glucose aux hépatocytes de tels rats, rétablit le niveau normal de F2,6P2 (van Schaftingen et al., 1980, 1980c; van Schaftingen et Hers, 1980; Richards et Uyeda, 1980, 1982; Claus et al., 1981, 1982; Pilkis et al., 1982a, 1982b, 1983; Hue et al., 1981). De plus le niveau de F2,6P2 augmente même chez des hépatocytes de rats normalement nourris,

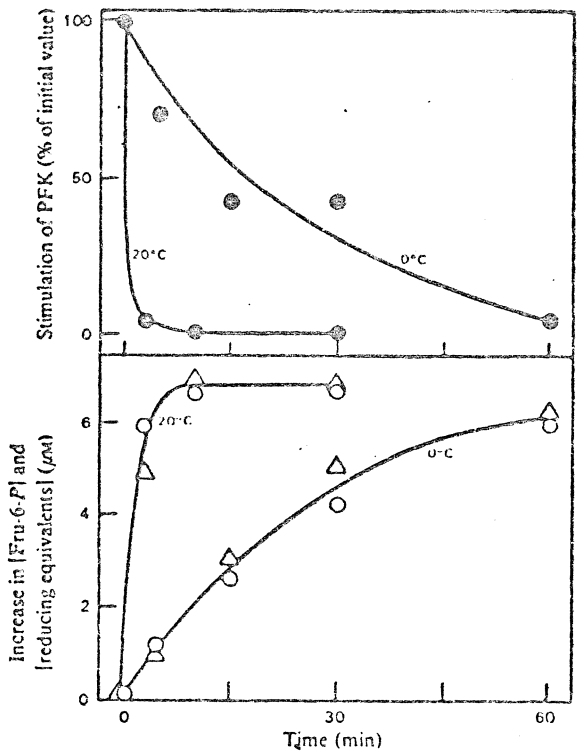

Figure 3: Hydrolyse acide de "l'activateur" de la PFK. L'activateur est incubé avec 0.01 M HCl soit à une température de 0° C soit à 20° C. Un équivalent réducteur (reducing equivalent) correspond au pouvoir réducteur d'une mole de F6P. Au temps zéro, le F6P n'est pas détectable. (o): F6P, (Δ): équivalents réducteurs. D'après van Schaftingen et al. (1980a).

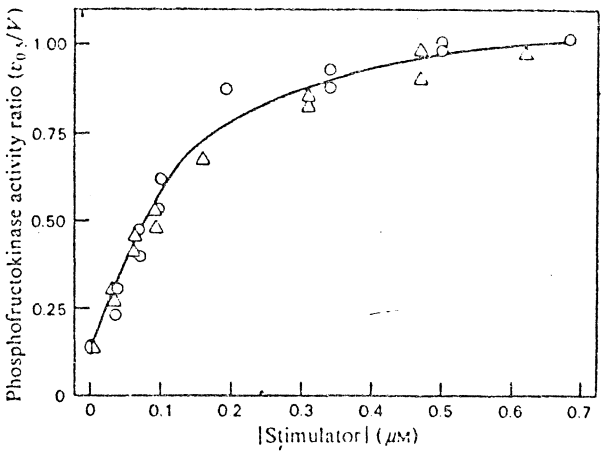

Figure 4: Comparaison entre l'activateur synthétique (Δ) et naturel (o) de la PFK.
La concentration du stimulateur est déterminée par la quantité de F6P libéré lors de l'hydrolyse acide. Le stimulateur naturel est isolé comme décrit par van Schaftingen et al., (1980a). L'activateur synthétique a été obtenu par incubation de F6P avec de l'acide phosphorique concentré (cf. van Schaftingen et Hers, 1980). L'activité de la PFK est mesurée à une concentration sous-saturante (0,5 mM) de F6P.

si l'on ajoute du glucose (van Schaftingen et al., 1980a; Hue et al., 1981, 1982; Pilkis et al., 1983). Cet effet est spécifique pour le glucose (Uyeda et al., 1982; Hue et al., 1982).

Un régime riche en sucres que l'on donne à des rats préalablement affamés, augmente le niveau de F2,6P2 de l'ordre de deux fois la normale (Neely et al., 1981). Lorsqu'on incube des hépatocytes provenant de rats normalement nourris ou affamés, avec du glucose, le F2,6P2 diminue considérablement si l'on ajoute du glucagon (fig 6, Uyeda et al., 1982; van Schaftingen et al., 1980b; Richards et Uyeda, 1980, 1981; Claus et al., 1981; Pilkis et al., 1981a, b, 1983; Hue et al., 1981, 1982; van Schaftingen et Hers, 1980; Richards et al., 1981; El-Maghrabi et al., 1982, 1982a).

L'adjonction de cAMP à des hépatocytes provenant de rats normalemnt nourris diminue également le niveau de F2,6P2 (Pilkis et al., 1983; Richards et al., 1981). Les effets des catécholamines (adrénaline p. ex.) ne sont pas clairs. En effet, ils peuvent augmenter (Hue et al., 1981) ou diminuer (Richards et al., 1981; Richards et Uyeda, 1981) le niveau de F2,6P2 hépatique.

L'insuline s'oppose à l'action du glucagon (fig. 6) et du cAMP. Chez des animaux diabétiques le niveau de F2,6P2 est beaucoup plus bas que la normale, une thérapie de remplacement par de l'insuline permet de rétablir le niveau normal de F2,6P2 (Neely et al.,1981).

Des teneurs élevées de F2,6P2 ont été trouvées dans le foie de souris génétiquement obèses (Hue et van de Werve, 1982; Claus et Pilkis, 1982).

Le F2,6P2 a été détecté dans tous les tissus des mammifères chez lesquels il a été mesuré. Les concentrations les plus élevées étant dans le foie, le cerveau, le muscle du coeur. Les plus basses dans les muscles squelettiques, le rein et l'épididyme. Cette substance a aussi été détectée dans les ilôts pancréatiques du rat où sa concentration semble diminuer lorsqu'on expose ces ilôts à du glucose (Castano et al., 1979).

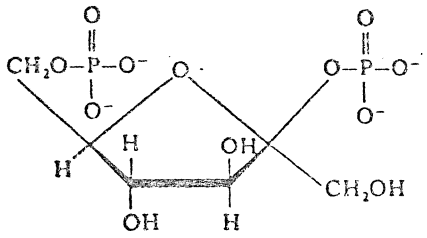

Figure 5: β -fructose-2,6-bisphosphate.

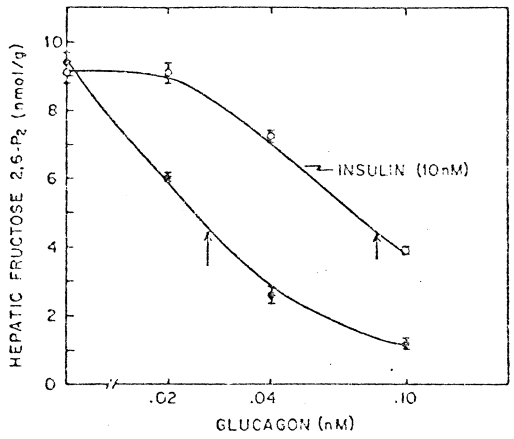

Figure 6: Effet du glucagon et du glucagon + insuline sur le niveau de fructose 2,6 P2 hépatique. D'après Pilkis et al., (1983).

La table 1 donne une liste des différents organismes et organes dans lesquels du F2,6P2 a été détecté ou impliqué.

Tous ces résultats montrent que cette substance est largement présente dans la nature et qu'elle joue très vraisemblement un rôle important dans la régulation de l'activité de la PFK et donc de la glycolyse en général dans différents types de cellules. De plus le F2,6P2 semble aussi jouer un rôle dans la régulation de la gluconéogénèse dans les cellules qui possèdent cette fonction.

Dans le foie, on peut en toute généralité affirmer que lorsque les flux glycolytiques sont élevés, ce qui est le cas par exemple chez des animaux nourris avec un régime riche en sucres ou immédiatement après un repas, le niveau de F2,6P2 est élevé et la glycolyse prédominante. Dans les souris obèses ou hyperglycémiques, le niveau d'insuline est élevé, la lipogénèse et la glycolyse sont très actives et, en effet, la concentration de F2,6P2 est élevée. En revanche, dans les états cataboliques, comme lors de l'affamement ou dans les cas de diabète, le flux glycolytique est réduit, la gluconéogénèse accélérée et le niveau observé de F2,6P2 est bas.

Ainsi, il semble très probable que dans le cas du métabolisme du foie, des modifications du niveau de F2,6P2 jouent un rôle important comme régulateur de la glycolyse et de la gluconéogénèse. Le rôle de ce sucre semble également primordial chez les plantes où il est aussi impliqué dans le métabolisme des sucres et plus particulièrement du saccharose(cf. plus loin).

Table 1: Liste des différents organismes chez lesquels du F2,6P2 a été détecté ou impliqué.

Organisme	Référence
Rat	
foie	voir texte
coeur	Rider et Hue, 1984
glandes mammaires	Sochor et al., 1984
adipocytes	Lederer et Hers, 1984
ilôts de Langerhans	Malaisse et al., 1981
surrénales	Sochor et al., 1984a
épididyme	Sobrino et Gualberto, 1985
cellules du cerveau	Pauwels et Trouet, 1984
Souris	
foie	Hue et van de Werve, 1982 Claus et Pilkis, 1982
cellules cancéreuses	Bosca et al., 1982
Lapin	
foie	Pontremoli et al., 1982
muscle	Uyeda et al., 1981
Boeuf (foie)	Ganson et Fromm, 1982
Chat (foie)	idem
Poulet (foie)	Chaekal et al., 1983
Homme	
fibroblastes	Bruni et al., 1983
erythrocytes	Meylan et al., 1982
Invertébrés	
insectes	Storey, 1983
mollusques marins	Storey, 1984 Storey, 1985
Divers	
levure	Avigad, 1981 Lederer et al., 1981
Euglena gracilis	Migatake et al., 1984
Escherichia coli	Marano et al., 1984
Plantes	cf. table 3

4 REGULATION DES ACTIVITES ENZYMATIQUES PAR LE F2,6P2

4.1 Activation de la 6-phosphofructo 1-kinase (PFK)

La PFK catalyse la première réaction irréversible de la glycolyse:

$$F6P + ATP \longrightarrow F1,6P2 + ADP$$

Il s'agit de l'exemple type d'un enzyme multimodulé, son contrôle peut être schématisé en disant que l'un de ses substrats, l'ATP, est un effecteur allostérique négatif qui induit une coopérativité (négative) marquée pour le second substrat, le F6P, lequel agit aussi comme un effecteur, mais cette fois positif qui enlève l'inhibition par l'ATP. De nombreuses autres substances ont une action allostérique comparable à l'ATP et au F6P, et agissent de manière synergique avec ces substrats. Ainsi, le citrate et les ions H^+ sont des effecteurs négatifs. Le F1,6P2, le G1,6P2 (glucose 1,6-bisphosphate), le $NH4^+$, le Pi, mais surtout l'AMP sont des effecteurs positifs (pour plus de détails voir Sols et al., 1981).

Le F2,6P2 augmente l'affinité de la PFK pour le F6P (fig. 7,8,9), mais n'a pas d'effet sur l'activité maximum (Vmax) de cette enzyme (Pilkis et al., 1981,1982d; Hers et van Schaftingen, 1982; Uyeda et al., 1981, 1982; van Schaftingen et al., 1981). Le Ka (affinité apparente) du F2,6P2 pour la PFK est d'environ 0.5 µ M, ce qui fait de ce sucre diphosphate un effecteur de 50 à 1000 fois plus efficace que le F1,6P2 (Hers et van Schaftingen, 1982; Pilkis et al., 1981; Soling et al., 1981) et 2500 fois plus efficace que le G1,6P2 (Hers et van Schaftingen, 1982, voir fig. 10). Le F2,6P2 élimine pratiquement de ce fait le rôle du F1,6P2 et du G1,6P2 comme effecteurs positifs dans des conditions physiologiques.

Le F2,6P2 diminue l'effet inhibiteur de l'ATP (fig. 7,8,9) de telle manière à ce que la demi-inactivation de l'enzyme nécessite une concentration de 8mM en présence de F2,6P2, au lieu de seulement 1.5mM en l'absence de cet effecteur (Hers et van Schaftingen, 1982; Uyeda et al., 1981a, 1982).

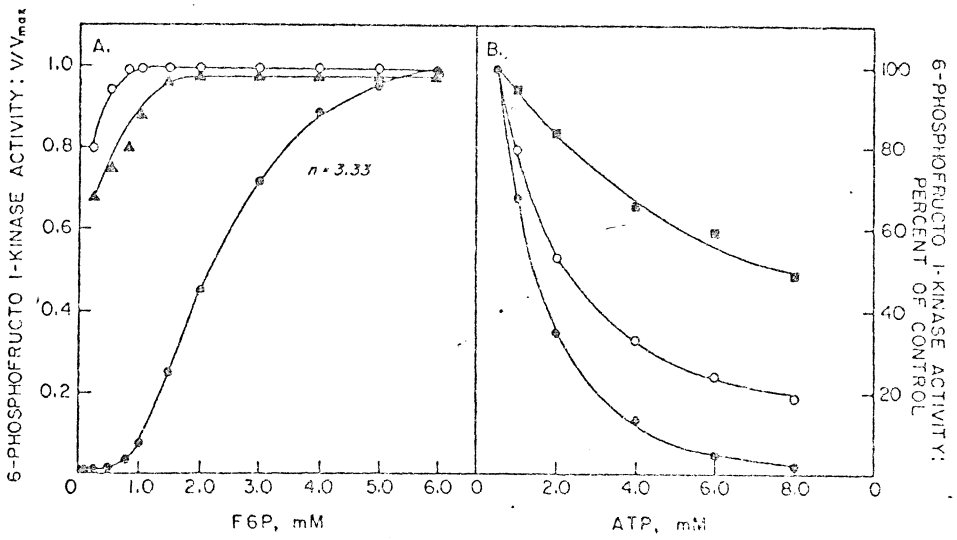

Figure 7: Quelques propriétés cinétiques de la PFK purifiée. A: Activité PFK en fonction de la concentration de F6P en absence (●) ou en présence de 150 µ M AMP (o) ou 30 µ M F2,6P2 (▲) B: Inhibition par l'ATP de la PFK en absence (●) ou en présence de 0.1 µ M (o) et 1 µ M (■) de F2,6P2. La concentration de F6P étant de 1 mM. D'après Pilkis et al., (1982c).

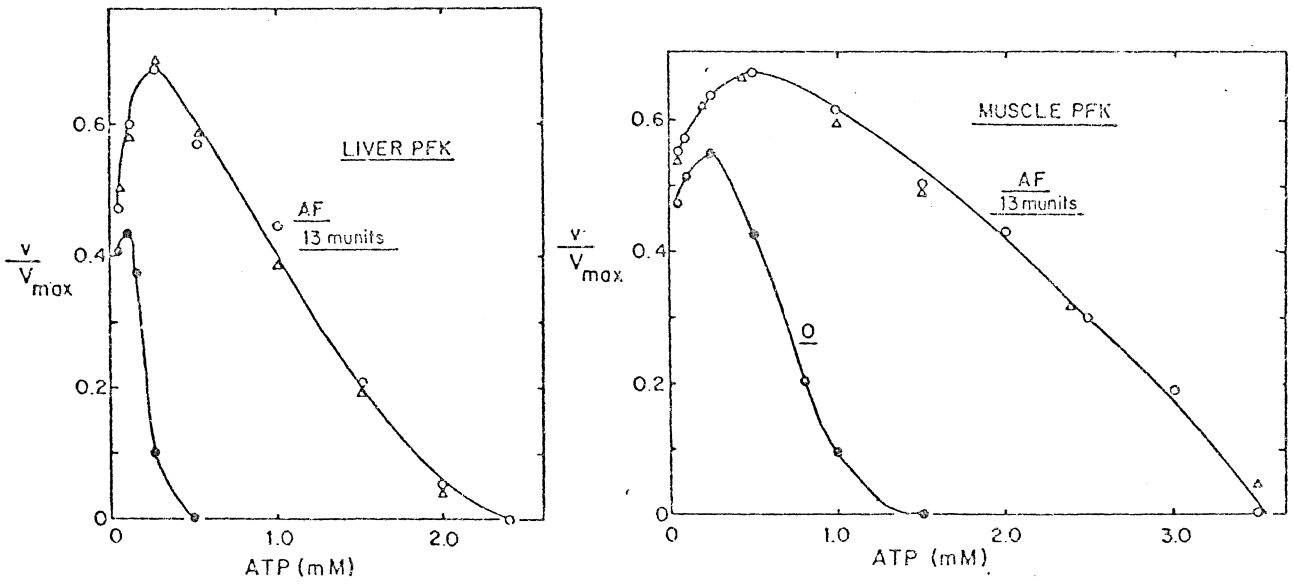

Figure 8: Effet du F2,6P2 naturel (Δ) et synthétique (o) sur l'inhibition par l'ATP de la PFK de muscle ou de foie (Liver). La concentration de F6P est de 1 mM. D'après Uyeda et al., (1981a).

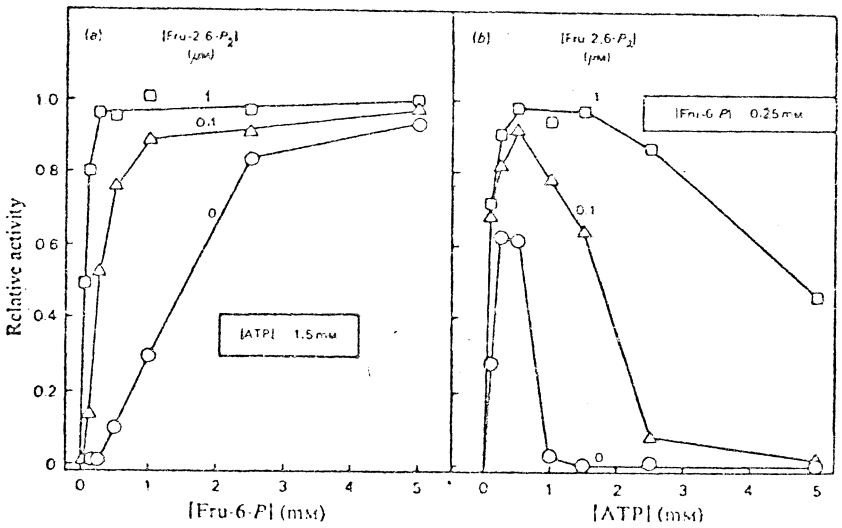

Figure 9: Effet du F2,6P2 sur (a) l'affinité de la PFK de foie pour le F6P et (b) l'inhibition de cet enzyme par l'ATP. D'après van Schaftingen et al. (1981b).

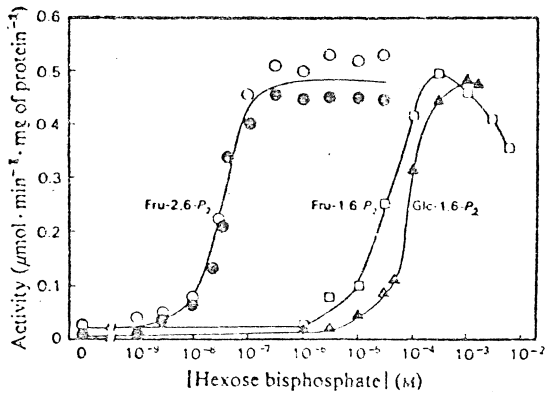

Figure 10: Activation de la PFK de foie par les hexoses bisphosphates. D'après van Schaftingen et Hers (1981b).

L'inhibition de la PFK par le citrate est aussi diminuée en présence de F2,6P2 (Uyeda et al., 1981a). Une autre action importante du F2,6P2 est sa capacité d'augmenter l'activation de la PFK par l'AMP (fig. 11, Pilkis et al., 1982a; van Schaftingen et al., 1981; Uyeda et al., 1981a). Dans ce cas, alors qu'il faut normalement une concentration de 0.2mM d'AMP en absence de F2,6P2 pour obtenir la demi-inactivation de la PFK, en présence de 0.03 μ M de F2,6P2, il suffit d'une concentration d'AMP de l'ordre de 0.01mM.

Enfin, il semble que le F2,6P2 protège la PFK de l'inactivation par la chaleur (Uyeda et al., 1981a), par des pH acides (Soling et al., 1981) et de la phosphofructokinase phosphatase (Soling et al., 1981).

A ce propos, la phosphorylation de la PFK du muscle et du foie de rat peut être catalysée *in vitro* par une protéine kinase cAMP dépendante (Pilkis et al., 1982c; Riquelme et al.,1978; Marais et al., 1979; Sorenson-Zigamke et Hofer, 1979; Foel et Kemp, 1982). L'incorporation de ^{32}P de ^{32}P-ATP dans la PFK de foie est stimulée *in vivo* par le glucagon (Kagimoto et Uyeda, 1979), aussi bien dans les hépatocytes isolés (Claus et al., 1980a), que dans le foie perfusé (Kagimoto et Uyeda, 1980).

Le rôle de cette phosphorylation n'est pas clair, en effet, aucune action sur la cinétique de la PFK n'a encore pu être mise en évidence par le groupe Pilkis-Claus (Pilkis et al., 1982c) et Hers (Hers et van Schaftingen, 1982). Il semblerait possible, d'après le groupe Uyeda, que la phosphorylation altère légèrement l'affinité de la PFK pour le F2,6P2. Furuya et Uyeda (1980) ont isolé des enzymes contenant peu ou beaucoup de phosphate, ils ont proposé que la première forme possède la plus grande affinité pour le F2,6P2. En fait s'il semble en général admis que la PFK puisse être phosphorylée-déphosphorylée sous l'action d'une protéine kinase cAMP-dépendante et d'une phosphoprotéine phosphatase, la raison de ce mécanisme reste encore très obscure.

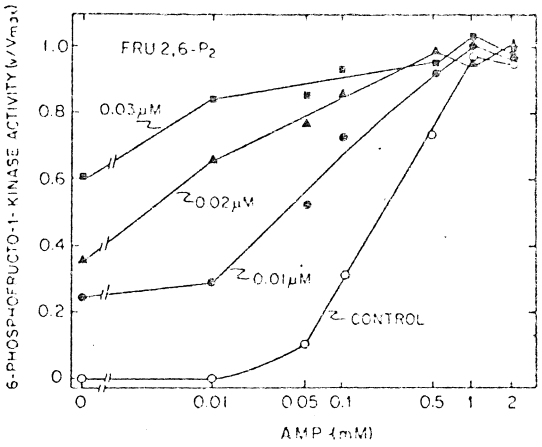

Figure 11: Effet synergique de l'AMP et du F2,6P2 sur l'activité de la PFK. D'après Claus et al., (1984).

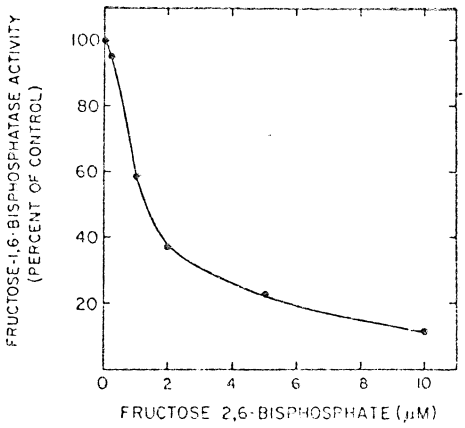

Figure 12: Effet du F2,6P2 sur l'activité de la fructose 1,6 bisphosphatase (FBP). D'après Pilkis et al. (1981a).

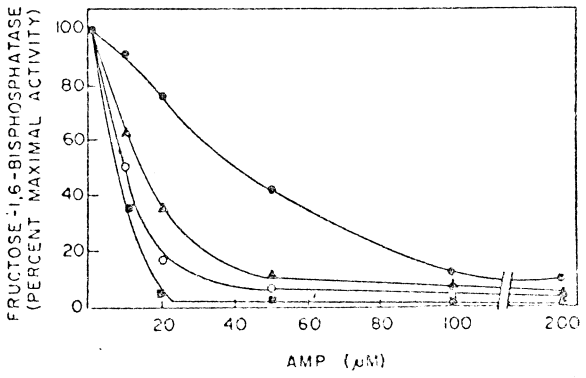

Figure 13: Effet synergique de l'AMP et du F2,6P2, sur l'activité de la FBP. Le F2,6P2 a les concentrations suivantes (●) 0; (▲) 0,1 μ M; (○), 0,2 μ M; (■), 1 μ M. D'après Pilkis et al., (1981b).

4.2 Inhibition de la fructose 1,6-bisphosphatase

Le F2,6P2 s'étant révélé être l'activateur le plus puissant de la PFK, des essais ont été entrepris sur d'autres activités enzymatiques. Parmi celles-ci on peut citer la glycogène phosphorylase, la phosphorylase phosphatase, la synthase phosphatase, la glucokinase, la glucose 6-phosphatase, la pyruvate kinase, la phosphoénolpyruvate carboxykinase, l'acétylcoA carboxylase. Aucun de ces enzymes ne s'est révélé être sensible au F2,6P2 (Hers et van Schaftingen, 1982). En revanche, une découverte très importante a été faite indépendamment par van Schaftingen et Hers (1981) et Pilkis et al., (1981) qui ont montré que le F2,6P2 est un inhibiteur de la FBP agissant synergiquement avec l'AMP.

La FBP est une enzyme impliquée dans la gluconéogénèse, elle catalyse la réaction suivante:

$$F1,6P2 \longrightarrow F6P + Pi$$

Il s'agit de la réaction réciproque qui est catalysée par la PFK (voir fig. 1).

Cette enzyme est régulée par différentes substances dont les ions métalliques et les nucléotides adényliques (cf. Tejwani 1983). La FBP montre une cinétique hyperbolique par rapport à son substrat, le F1,6P2, mais elle est en général classée comme allostérique, car elle montre une cinétique sigmoïdale vis-à-vis de l'inhibition par l'AMP (Tejwani, 1983; Tejwani et al., 1976; Sarngadhavan et al., 1969; Pontremoli et al., 1968., Nimmo et al., 1975).

La fig. 12 montre que le F2,6P2 est un inhibiteur très puissant de la FBP (Pilkis et al., 1981a; van Schaftingen et Hers, 1981, Pilkis et al., 1981b).

Le F2,6P2 augmente l'inhibition de la FBP par l'AMP (fig. 13), (Pilkis et al., 1981b, 1982a; van Schaftingen et Hers, 1981). Des travaux ont montré que le F2,6P2 augmente l'affinité de l'enzyme par l'AMP (McGrane et al., 1983).

La FBP du foie de rat, comme la PFK, peut être phosphorylée. La phosphorylation de cette enzyme peut être obtenue *in vitro* par une protéine kinase cAMP-dépendante (Riou et al., 1977; Ekman et Dahlquist-Edberg, 1981). Du ^{32}P (γ ^{32}P [ATP]) peut être incorporé dans l'enzyme, *in vivo* (Riou et al., 1977) ou dans des hépatocytes isolés. Dans ce dernier cas l'incorporation de ^{32}P est stimulée par le glucagon (Claus et al., 1981a). Comme pour la PKF (cf. 4.1), l'effet de la phosphorylation de la FBP reste sujet à controverse.

On peut déjà insister sur la remarquable propriété de régulation du F2,6P2 qui est simultanément un activateur du flux glycolytique de par son action sur la PFK et inhibiteur de la FBP, c'est-à-dire de la gluconéogénèse, dans une gamme de concentration incroyablement proche (0,5 - 0,8 µ M).

5 PROPRIETES DE LA 6-PHOSPHOFRUCTO 2 KINASE/FRUCTOSE-2,6-BISPHOSPHATASE

La présence de F2,6P2 dans le foie et d'autres tissus, conjointement aux observations qui montrent que le niveau de ce sucre est altéré suivant les conditions physiologiques (cf. § 2), suggère l'existence d'activités enzymatiques de synthèse et de dégradation de cette substance.

L'activité enzymatique synthétisant le F2,6P2 dans le foie du rat a été découverte indépendamment dans 3 laboratoires (Furuya et Uyeda, 1981; van Schaftingen et Hers, 1981a; El-Maghrabi et al., 1981a) et catalyse la réaction suivante:

$$\text{Fructose-6-P} + \text{ATP} \xrightarrow{Mg^{++}} \text{Fructose 2,6 } P_2 + \text{ADP}$$

Il en a été de même pour l'activité enzymatique responsable de la dégradation du F2,6P2 (El-Maghrabi et al., 1982a, b; Yokoyama et al., 1982; van Schaftingen et al., 1982).

Table 2: Comparaison des propriétés des enzymes PFK1,PFK2 et FB1,FB2.

Propriétés		PFK 1	PFK 2	FBP 1	FBP 2
Activité spécifique		100U/mg	0.06U/mg	40U/mg	0,1U/mg
Poids moléculaire		320.000	110.000	164.000	110.000
Poids moléculaire des sous-unités		83.000	55.000	41.000	55.000
Affinité pour les substrats	ATP	0,1 mM	0,2 mM	-	-
	F6P	2 mM	0,05 mM	-	-
	F1,6P2	-	-	0,001 mM	-
	F2,6P2	-	-	-	0,001 mM
Activateurs		Pi,K+,NH_4^+ AMP,F2,6P2, (F1,6P2;G1,6P2)	Pi, PEP	-	Pi, α glycérol phosphate
Inhibiteurs		Citrate,ATP, α glycérol-phosphate	α-glycérol phosphate, citrate F2,6P2	AMP,F2,6P2, F6P,Pi	F6P
Phosphorylation cAMP dépendante		oui	oui	oui	oui
Activité de l'enzyme phosphorylé		pas de changement ou pas clair	diminuée	pas de changement ou pas clair	augmentée

Il semble que ce soit une seule protéine qui catalyse les deux réactions (Pilkis et al., 1983a; El-Maghrabi et al., 1982b). Cette idée se fonde sur les résultats suivants: (1) les deux activités sont éluées ensemble d'une colonne de phosphocellulose par une solution de F6P; (2) l'éluat de cette colonne contenant les activités enzymatiques en question montre une seule bande après l'electrophorèse sur gel d'acrylamide-SDS (Mr. 55.000); (3) Lorsque l'éluat obtenu sous (1) est chromatographié sur une colonne de Sephadex G-100, les deux activités coéluent avec un poids moléculaire apparent de Mr = 100.000; (4) enfin, si on incube la préparation enzymatique purifiée avec la sous-unité catalytique de la protéine kinase cAMP dépendante en présence de [γ -^{32}P] ATP, on observe la phosphorylation d'un peptide (Mr = 55.000) qui concorde avec la modification simultanée des activités de la F2,6P2 et de la 6PFK2-kinase.

Ces résultats sont confirmés par les travaux du groupe de Liège (van Schaftingen et al., 1981a).

La table 2 résume les propriétés de la 6-phosphofructo-2-kinase (PFK2) et de la fructose-2,6-bisphosphatase (FBP2) et les compare à la PFK (PFK1) et à la FBP (FBP1).

L'activité de la PFK2/FBP2 constitue un cycle futile, car elle peut hydrolyser de l'ATP sans autre. Toutefois, cette activité est limitée, premièrement par l'influence des différents effecteurs différents pour chaque activité. Deuxièmement, par la régulation des deux activités enzymatiques par la protéine kinase cAMP dépendante. Une préparation purifiée de cette protéine kinase catalyse l'incorporation de ^{32}P ([γ ^{32}P] ATP) dans un extrait purifié de PFK2/FBP2. Deux moles de ^{32}P sont incorporées dans des résidus de serine par mole de dimère (une PFK2/FB2 est constituée de 2 monomères de 55.000 Mr) (El-Maghrabi et al., 1982a, b). La PFK2/FBP2 qui est un excellent substrat pour la protéine kinase, est phosphorylée sur un résidu de serine faisant partie de la séquence Val-leu-Gln-Arg-Arg-Gly-Ser (P)-Ser-Ile-Pro-Gln. La phosphorylation de cette enzyme bifonctionnelle diminue son activité kinasique en diminuant l'affinité (Km) de la PFK2 pour le F6P

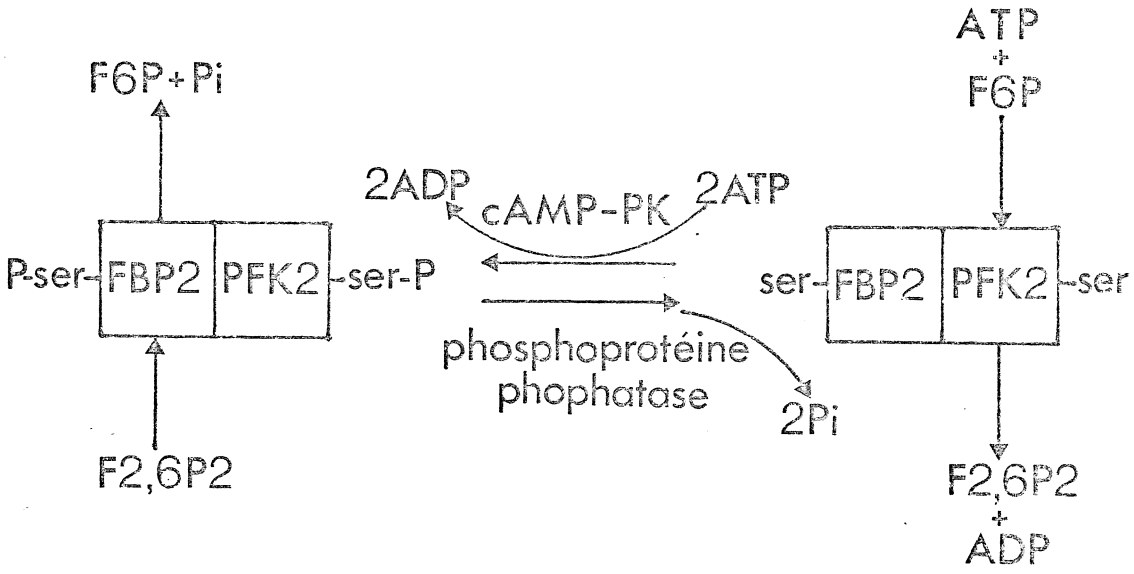

Figure 14: Régulation de l'activité de la FBP2/PFK2 par un mécanisme de phosphorylation-déphosphorylation. cAMP-PK: protéine kinase cAMP-dépendante.

(El Maghrabi et al., 1982a; van Schaftingen et al., 1982; Furuya et al., 1982) et en diminuant légèrement l'activité maximum (Vmax) de l'enzyme (El-Maghrabi et al., 1982a, Yokoyama et al., 1982; Furuya et al., 1982). L'activation de l'activité de la phosphatase lors de la phosphorylation de la PFK2/FB2 est due à une augmentation de l'affinité apparente (K_a) pour le F2,6P2 et à une action stimulante sur le Vmax de l'activité (El-Maghrabi et al., 1982a; Yokoyama et al., 1982; van Schaftingen et al., 1982).

Ainsi lorsque l'enzyme est phosphorylé, l'activité F2,6Base est prédominante (El-Maghrabi et al., 1982; van Schaftingen et al., 1982). La déphosphorylation de l'enzyme est catalysée par une phosphoprotéine phosphatase, mais cette activité n'est pas encore bien caractérisée (Richards et al., 1982).

La fig. 14 représente un schéma simplifié de la régulation de la PFK2/FBP2 par le mécanisme de phosphorylation-déphosphorylation.

6 DISCUSSION

Le glucagon augmente la gluconéogénèse et inhibe la glycolyse en abaissant le niveau de F2,6P2. Ce régulateur agit simultanément sur la PFK pour l'activer et sur la FBP pour l'inhiber. L'enzyme responsable de la synthèse et de la dégradation du F2,6P2 la PFK2/FBP2 est sous la dépendance d'un mécanisme de phosphorylation-déphosphorylation, via le système classique des protéines kinases cAMP-dépendantes. Ainsi, le glucagon active l'adényle cyclase, élève le niveau de cAMP ce qui active une ou des protéines kinases. Ces dernières phosphorylent la PFK2/FBP2 qui voit son activité PFK2 être inhibée au profit de la FBP2, ainsi le niveau de F2,6P2 diminue sous l'effet du glucagon. De la sorte la PFK sera inhibée et la FBP activée, ce qui conduit à favoriser le flux gluconéogénétique (fig. 15). On peut noter que l'élévation du cAMP provoque aussi la phosphorylation d'une autre enzyme glycolytique; la L-pyruvate kinase, ce qui a pour effet de

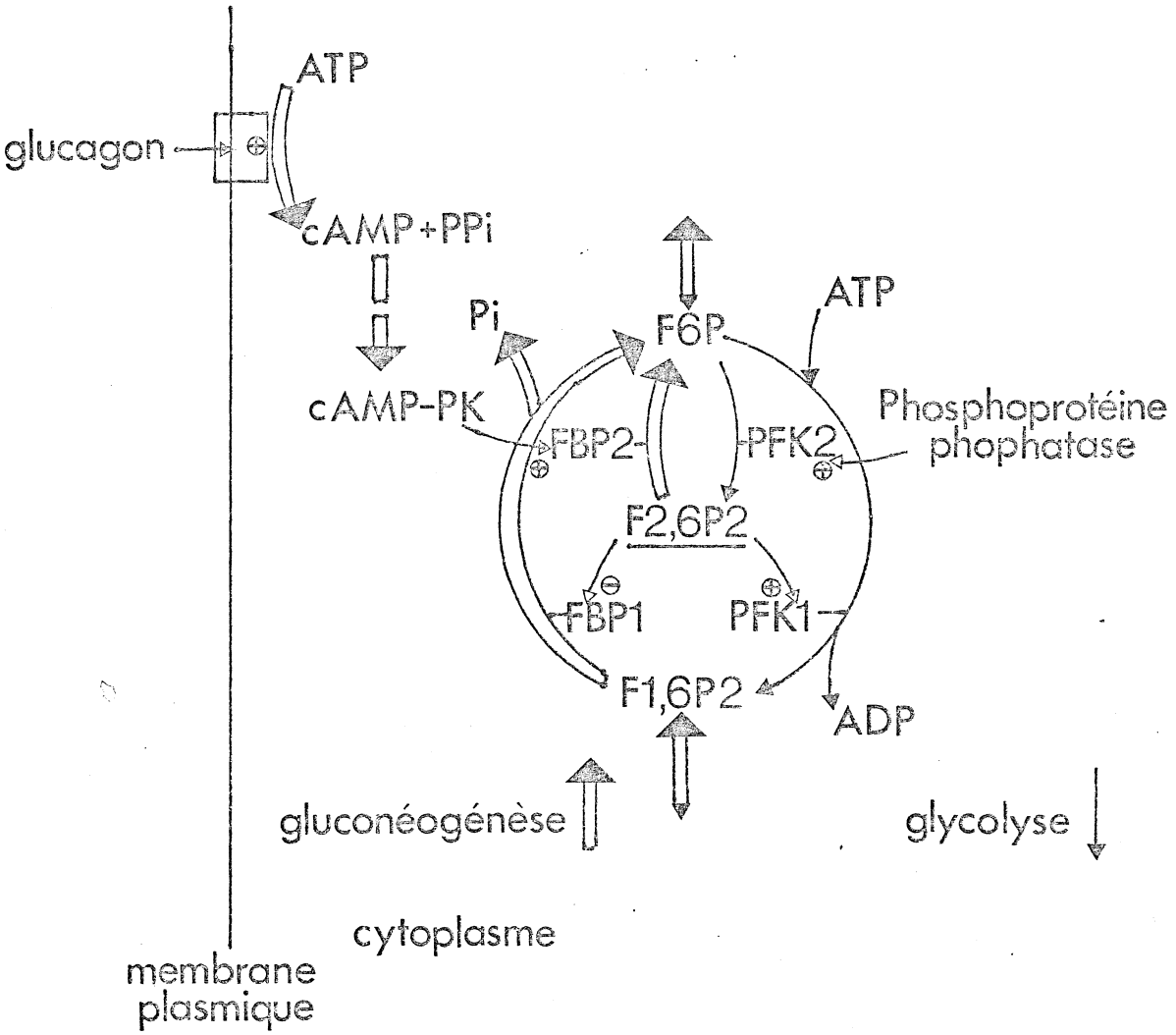

Figure 15: Activation de la gluconéogénèse par le glucagon.

l'inhiber également. L'action du glucagon paraît donc être "concertée" pour augmenter la gluconéogénèse.

Le F2,6P2 peut être considéré comme un signal intracellulaire qui signifie que l'organisme a faim.

7 ROLE DU F2,6P2 CHEZ LES VEGETAUX SUPERIEURS

Chez les animaux, le F2,6P2 s'est révélé être un régulateur extrêmement important. Il permet non seulement de mieux comprendre les modalités de l'action du glucagon sur la gluconéogénèse, mais aussi il réconcilie les estimations théoriques des flux glycolytiques via la PFK avec les résultats expérimentaux.

Le F2,6P2 a aussi été détecté chez des levures où il active la PFK (Lederer et al., 1981; van Schaftingen et al., 1981; Avigad, 1981; Bartrons et al., 1982) et inhibe la FBP (Van Schaftingen et Hers, 1981).

Chez les plantes, Sabularse et Anderson (1981a), Cseke et al. (1982) et Stitt et al. (1982), ont examiné quel pouvait être l'effet du F2,6P2 sur la PFK et la FBP aussi bien cytoplasmique que chloroplastique. Un effet très net (inhibition) du F2,6P2 sur la FBP cytoplasmique a été obtenu, mais aucune action n'a pu être mise en évidence sur la PFK du cytoplasme ou du chloroplaste, de même que sur la FBP chloroplastique. Ce résultat concorde avec le fait que le F2,6P2 a été localisé dans le cytoplasme.

A l'exception d'une publication de Miernyk et Dennis (1982), où ces auteurs montraient une activation de la PFK chloroplastique par le F2,6P2, résultat contesté par tous les autres chercheurs et dont les auteurs eux-mêmes reconnaissent actuellement la non-reproductibilité de leurs expériences, l'absence d'effet du F2,6P2 sur la PFK contraste très nettement avec le schéma de régulation obtenu dans le règne animal.

Toutefois, un effet très net du F2,6P2 (activation) a été obtenu sur une pyrophosphate phosphofructokinase (PPi-PFK ou PFP) qui catalyse une réaction semblable, bien que réversible, à celle de la PFK. En ce qui concerne la PFP on notera que paradoxalement la régulation de cet

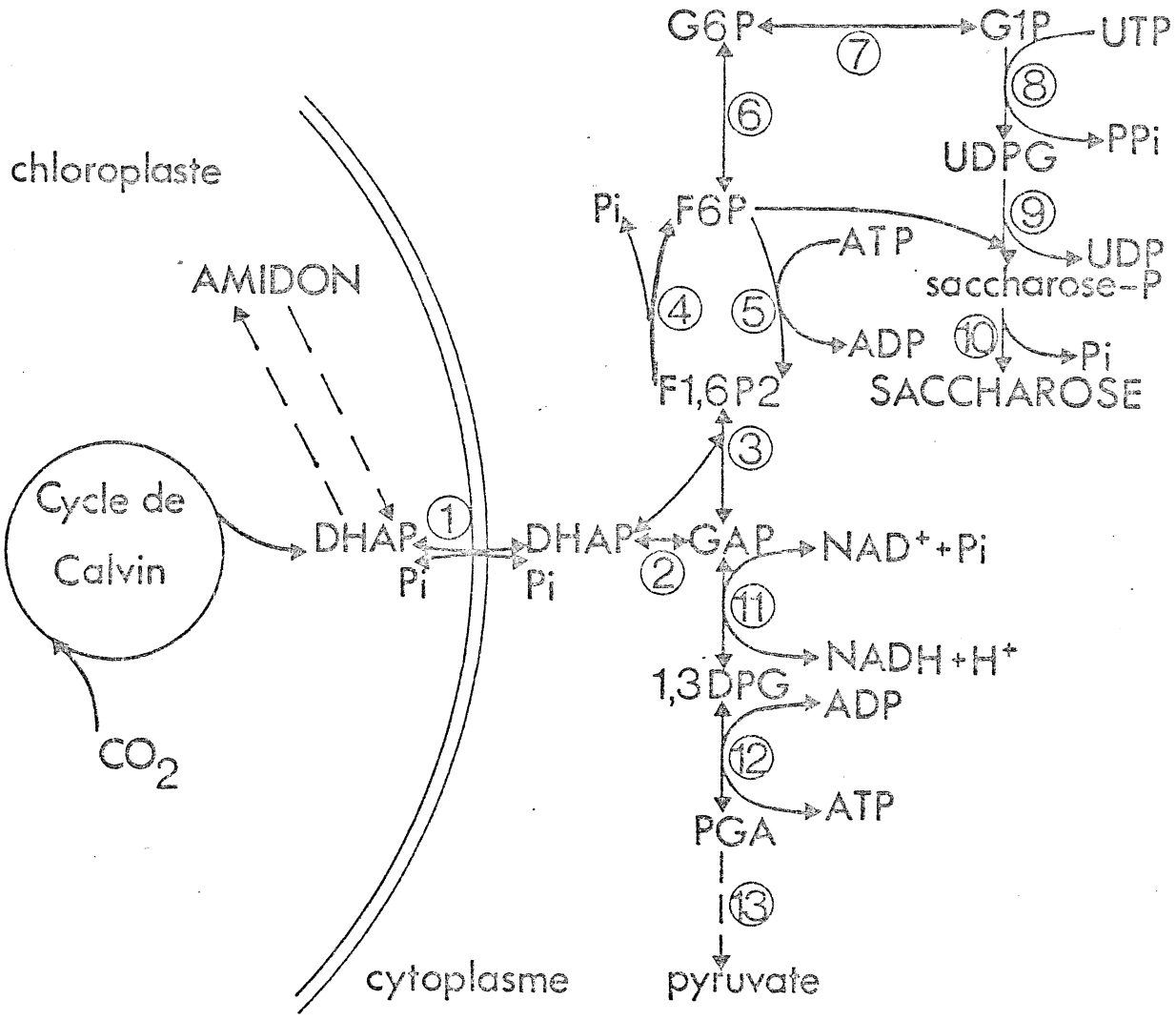

Figure 16: Synthèse du saccharose (1) translocateur du Pi sur la membrane interne de l'enveloppe du chloroplaste. (2) phosphotriose-isomérase. (3) aldolase. (4) fructose 1,6 bisphosphatase. (5) phosphofructokinase. (6) phosphohexose isomérase. (7) phosphoglucomutase. (8) UDP-Glc pyrophosphorylase. (9) saccharose 6 phosphate synthétase. (10) sucrose phosphatase. (11) glycéraldéhyde phosphate déhydrogénase. (12) phosphoglycérate kinase. (13) fin de la glycolyse avec production finale de pyruvate à partir du PEP par la réaction irréversible catalysée par la pyruvate kinase. PPi: pyrophosphate, UDP-Glc: uridine diphosphoglucose. Autres abbréviations: voir figure 1.

enzyme et son activité ont été découvertes avant même son rôle exact, qui reste encore obscur!

De ce point de vue, on peut noter que, curieusement, une cellule de levure ressemble plus à un hépatocyte qu'à une cellule végétale.

Chez les plantes supérieures, ce n'est pas le glucose qui est le sucre distribué des "organes" producteurs ou de stockage, vers ceux consommateurs, mais le saccharose.

C'est lui la principale source d'énergie et de précurseurs distribués des feuilles aux organes consommateurs (feuilles en croissance, racines, tiges, zones méristématiques, fruits, etc.,.).

Il se révèle donc nécessaire de resituer les notions de glycolyse et de gluconéogénèse par rapport au métabolisme de ce sucre. Si l'on étudie attentivement la figure 16, on remarque une très grande différence avec la glycolyse et la gluconéogénèse qui se déroule chez les cellules animales (fig. 1). Cette différence est due à la présence essentielle du chloroplaste qui, après fixation du CO_2, produit et exporte des trioses-phosphates (C_3). Ces derniers étant des intermédiaires de la glycolyse.

La synthèse du saccharose, processus qui peut être considéré comme une gluconéogénèse partielle à partir des C_3, et la glycolyse sont des voies métaboliques dont la régulation chez les végétaux reste encore à préciser (cf. Ap Rees, 1980). La découverte du F2,6P2 a bien fait avancer les connaissances dans ce domaine, sans toutefois arriver à une description cohérente (cf. plus bas).

7.1 Concentration du F2,6P2 chez les végétaux

La présence de F2,6P2 a été localisée exclusivement dans le cytoplasme des cellules du mésophylle aussi bien chez des plantes de type C_3

Table 3: Concentrations du F2,6P2 chez quelques végétaux.

Matériel	Concentration de F2,6P2	Référence
Feuille de maïs	3-30 µ M	Stitt et Heldt, 1985
Feuille de blé	1-5 µ M	Stitt et al., 1982
Feuille d'épinard	5-10 µ M	Stitt et al., 1983
"	300 µ M	Cseke et al., 1982
Disque de feuille d'épinard	3-20 µ M	Herzog et al., 1984
Tubercule de topinambour	0,0-2,5 nmoles/g.P.F.	Van Schaftingen et Hers, 1983
Feuille d'épinard	0,1-0,5 nmoles/g.P.F.	Herzog et al., 1984
Plantules (2-5 jours) de ricin	0,05-0,17 nmoles/g.P.F.	Kruger et Beevers, 1985

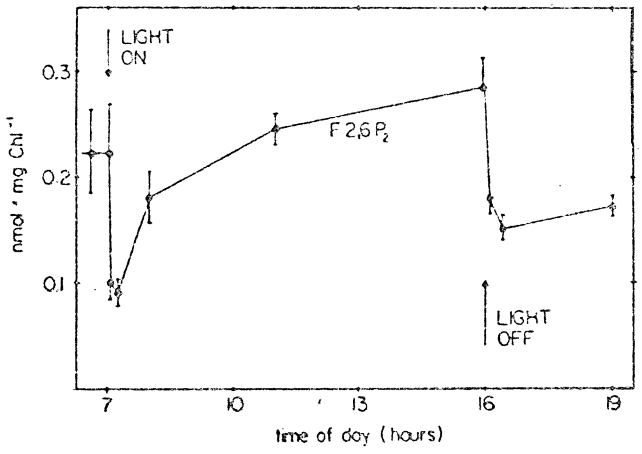

Figure 17: Fluctuations journalières du niveau de F2,6P2 dans des feuilles d'épinard. D'après Stitt et al. (1983).

comme l'épinard (Cseke et al., 1982; Stitt et al., 1983) que chez des plantes de type C_4, tel le maïs (Stitt et Heldt, 1985).

Il a été détecté et impliqué chez de très nombreuses plantes C_3,C_4 ou CAM (cf. liste de Carnal et Black, 1983).

La concentration précise est difficile à mesurer chez les plantes, mais des estimations ont été faites en se fondant sur l'évaluation du volume cytoplasmique suivante chez l'épinard: on évalue le volume cytoplasmique à 20 µ l par mg de chlorophylle. A l'exception d'un seul travail toutes les valeurs sont dans l'ordre du µ molaire (cf. table 3).

Le niveau de F2,6P2 varie suivant les conditions lumineuses. L'enclenchement de la lumière et de l'obscurité chez l'épinard se manifestent par des variations analogues du niveau de F2,6P2 (fig. 17). Lorsque des disques foliaires d'épinard sont exposés à des intensités lumineuses croissantes, le niveau de F2,6P2 décroît (fig. 18). Chez ces mêmes disques, la concentration de CO_2 dans le milieu de suspension est également inversément liée au niveau de F2,6P2 (fig. 19).

Lors du développement des graines de ricin en plantules (0-5 jours), la concentration de F2,6P2 varie dans l'endosperme de ces végétaux (Kruger et Beevers, 1985).

Ainsi, ces exemples montrent que la concentration de F2,6P2 est du même ordre que celle des cellules animales et également sujette à des variations qui dépendent de facteurs externes ou développementaux. L'allure de ces fluctuations implique l'existence chez les végétaux d'un système enzymatique analogue à celui de la PFK2/FBP2 des animaux.

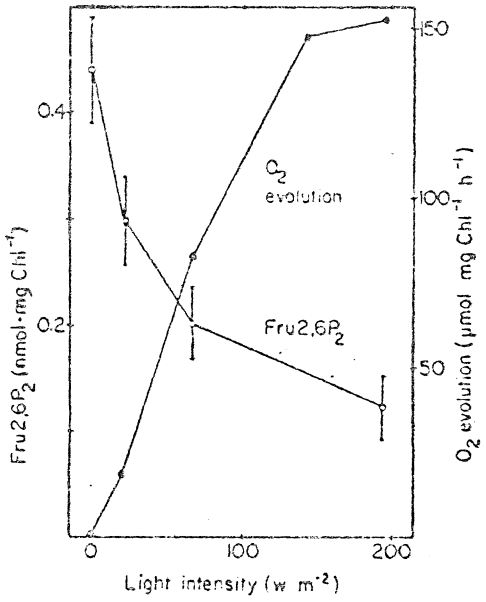

Figure 18: Teneur du F2,6P2 et dégagement d'oxygène par des disques de feuilles d'épinard soumis à différentes intensités lumineuses. D'après Stitt et al. (1984).

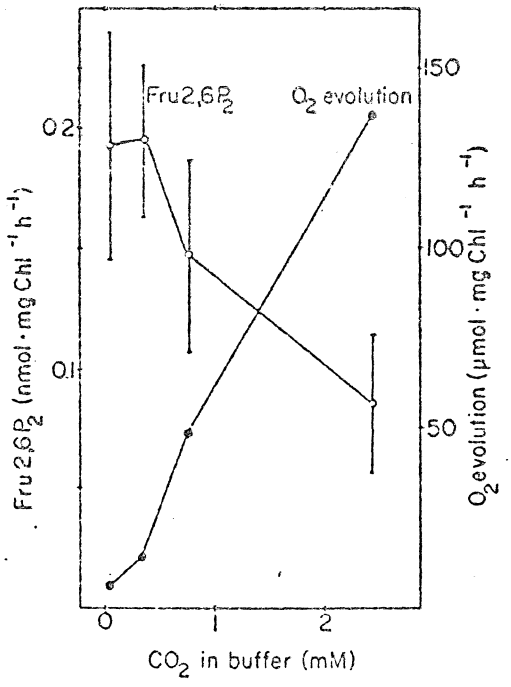

Figure 19: Teneur du F2,6P2 et dégagement d'oxygène par des disques de feuilles d'épinard à différentes concentrations de CO_2 dans le milieu pendant 10 min. L'intensité lumineuse donnée est de 190 W.m^{-2}. D'après Stitt et al. (1984).

7.2 Régulation des activités enzymatiques par le F2,6P2

7.2.1 Inhibition de la fructose 1,6-bisphosphatase cytoplasmique FBPc

La FBPc est une enzyme très importante dans la synthèse du saccharose (cf. fig. 16), puisque lorsque les trioses-phosphates sont exportés à l'extérieur du chloroplaste, la FBPc catalyse la première réaction irréversible dans le processus de biosynthèse du saccharose.

La FBPc de l'épinard et du pois possède une grande affinité pour son substrat, le F1,6P2, puisque le Km vaut 5 µ M. Cette activité enzymatique dépend de la présence d'ions métalliques bivalents tel le Mg^{++} (Km: 1mM, Herzog et al., 1984).

Le F2,6P2 inhibe considérablement cette activité (Cseke et al., 1982, fig. 20). Pour d'autres auteurs, cette inhibition est également accompagnée par une modification de la coopérativité de sorte à ce que la courbe de l'activité enzymatique en fonction de la concentration de substrat passe d'une allure hyperbolique sans F2,6P2 à une allure sigmoïdale en sa présence (fig. 21, Herzog et al., 1984). Le coefficient de Hill varie respectivement de 1 à 2,7-3,1 (Herzog et al., 1984). Comme la FBP1 animale, la FBPc végétale est inhibée par l'AMP, ceci avec un effet synergique très prononcé si l'on ajoute du F2,6P2 (fig. 22, Stitt et al., 1982; Herzog et al., 1984).

Il semble que la FBPc soit aussi inhibée par le Pi (Harbron et al., 1981), le F2,6P2 n'augmentant que peu cet effet.

Chez les plantes de type C_4, comme le maïs, la FBPc possède qualitativement les mêmes propriétés que celles décrites ci-dessus, mais montre, néanmoins, une affinité plus faible pour son substrat (Km = 20-25 µ M) et, en revanche, une sensibilité encore plus accrue à l'inhibition synergique de l'AMP et du F2,6P2 (Stitt et Heldt, 1985).

La FBPc de l'endosperme de ricin montre des propriétés cinétiques et de régulation vis-à-vis du F2,6P2 tout à fait similaires à celles de l'épinard (Kruger et Beevers, 1984).

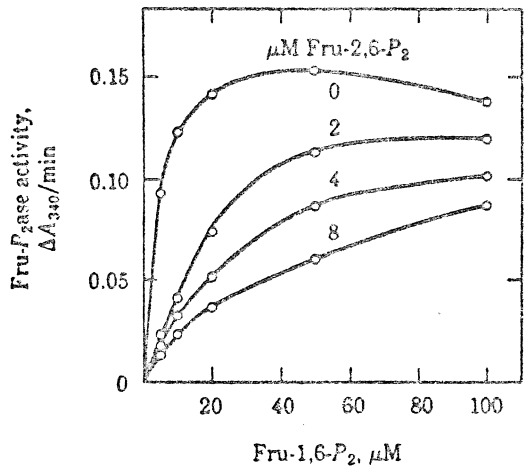

Figure 20: Effet du F2,6P2 sur la FBPc des feuilles d'épinard. D'après Cseke et al. (1982).

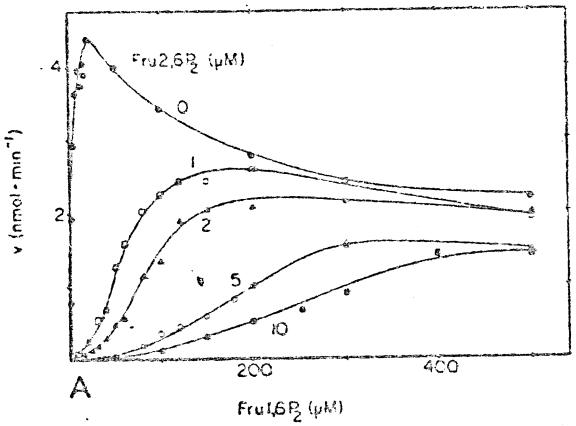

Figure 21: Inhibition de la FBPc de l'épinard par le F2,6P2. D'après Herzog et al. (1984).

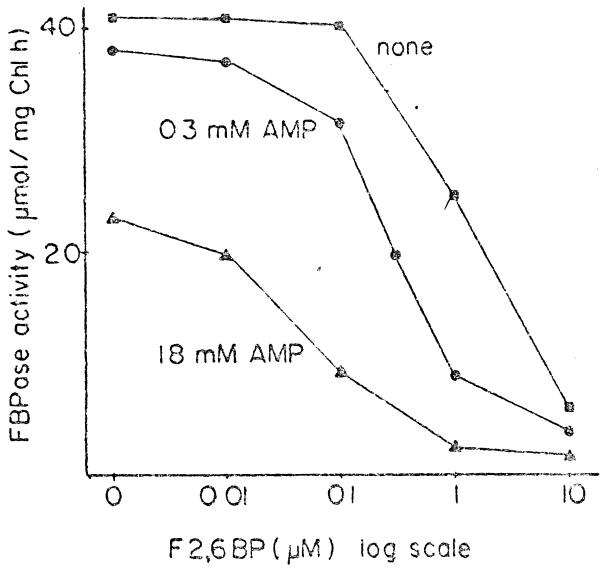

Figure 22: Effet de différentes concentrations de F2,6P2 sur l'inhibition de la FBPc de l'épinard par l'AMP. D'après Stitt et al. (1982).

7.2.2 Activation de la pyrophosphate phosphofructokinase (PPi-PFK ou PFP)

La PFP catalyse la réaction réversible suivante:

$$PPi + F6P \longleftrightarrow F1,6P2 + Pi$$

Normalement, c'est l'ATP-PFK (PFK) qui est considérée comme le point d'entrée dans la glycolyse et le site clef pour la régulation fine par les métabolites et les ions (cf. figs. 1 et 16, voir Turner et Turner, 1980).

La PPi-PFK qui est une enzyme cytoplasmique ayant potentiellement une activité semblable à l'ATP-PFK, a été initialement découverte chez une amibe parasite (Reeves et al., 1974), puis, un peu plus tard, dans une bactérie (O'Brien et al., 1975). Bien que l'activité PPi-PFK de l'amibe et de la bactérie soient totalement réversibles, produisant du F1,6P2 ou du F6P, il est admis dans ces cas que l'équilibre des substrats est tel qu' *in vivo* la PPi-PFK fonctionne dans la direction glycolytique (Reeves et al., 1974; O'Brien et al., 1975). De plus, chez ces organismes, l'activité de l'ATP-PFK est très faible (Reeves et al., 1974). On peut noter que la PFP des bactéries et de l'amibe citée ci-dessus sont insensibles au F2,6P2. Ce n'est que plus tard que la distribution de la PFP a été étendue aux plantes vertes (Carnal et Black, 1979). En 1981, Sabularse et Anderson (1981) ont découvert cette enzyme aussi chez des plantules étiolées d'haricot ("mung bean"). La même année, Sabularse et Anderson (1981a) montraient que cette enzyme cytoplasmique est régulée (activation) par le F2,6P2 contrairement à l'ATP-PFK (fig. 23).

Il est possible de relever plusieurs points à partir de ces résultats. Le premier point est l'activation de la PFP par le F2,6P2 dans une gamme de concentration µ molaire. Le deuxième point, est l'activation considérable, dans ce cas, obtenue avec le F2,6P2. Ce régulateur augmente l'affinité (Km) de l'ordre de 67 fois et l'activité maximale (Vmax) de 15 fois.

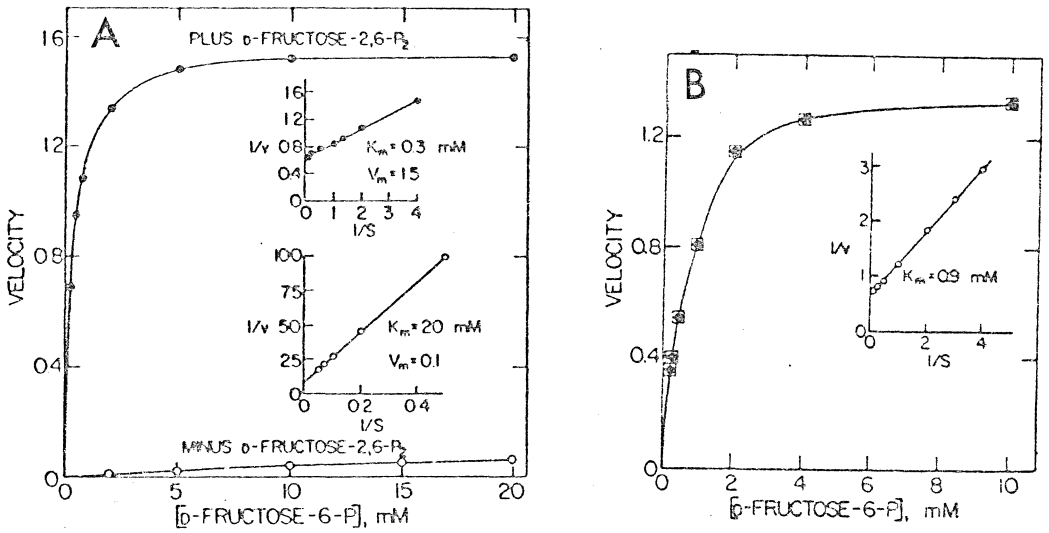

Figure 23: A: Effet du F2,6P2 sur les constantes cinétiques de la PPi-PFK. Les dosages utilisent 320 ng d'enzyme purifié 670 fois en absence (o) de F2,6P2 et 64 ng en présence (●) de 1 µ M de F2,6P2. La vitesse "velocity" est exprimée en nmole de F1,6P2 formé par minute et par 64 ng de protéine.
B: Absence d'effet du F2,6P2 sur l'ATP-PFK. (□) pas de F2,6P2 (●) + 1 µ M F2,6P2. Vitesse exprimée par nmole de F1,6P2 formé par minute et par 105 µ g de protéine.
D'après Sabularse et Anderson (1981).

L'augmentation du Vmax est une caractéristique supplémentaire à attribuer dans ce domaine aux végétaux. Chez les animaux, le F2,6P2 n'active la PFK qu'en ce qui concerne son affinité (Km) pour le F6P (cf. figs. 7,8,9).

De très nombreuses autres plantes possèdent une activité PFP qui est stimulée par le F2,6P2 (épinard, par ex., cf fig. 24, Cseke et al., 1982, voir aussi liste dans Carnal et Black, 1983, pomme de terre, van Schaftingen et al., 1982, plantule de ricin, Kombrink et al., 1984).

Le rôle de cet enzyme reste encore très obscur, car à cause de sa réaction réversible on ne sait pas s'il fonctione dans la direction glycolytique ou gluconéogénétique. De plus chez les végétaux, la détermination précise des concentrations cytoplasmiques des différentes molécules en jeu (F6P, F1,6P2, Pi, PPi, ATP, ADP, etc.,.) fait défaut, ce qui ne facilite pas le problème.

Balogh et al. (1984) proposent une interconversion de l'activité PPi-PFK en ATP-PFK et vice-et-versa par le F2,6P2 et l'UDPG (cf. fig. 25), cette théorie a été très sérieusement mise en question par Gancedo (1984) et Kruger et Dennis (1985a) récemment.

La situation se complique encore si l'on tient compte des travaux de Wu et al. (1984) et de Yan et Tao (1984) où ces auteurs ont observé l'existence d'isozymes de la PFP (PFP1 et PFP2) dont la sensibilité au F2,6P2 est différente et/ou l'un se convertit en un autre sous l'effet du F2,6P2.

En résumé, si l'activation par le F2,6P2 de l'activité PFP ne fait pas de doute, la fonction de cette enzyme et les modalités de régulation supplémentaires restent encore à éclaircir.

Chez des graines de *Phaseolus mungo* en germination, le Pi est un inhibiteur de la PPi-PFK (Ashihara et Stupavska, 1984) et il diminue chez la pomme de terre l'effet du F2,6P2 (van Schaftingen et al., 1982).

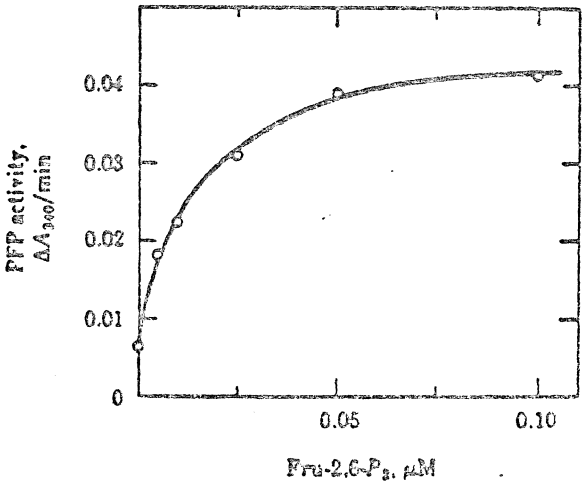

Figure 24: Activation de la PFP d'épinard par le F2,6P2. D'après Cseke et al. (1982)

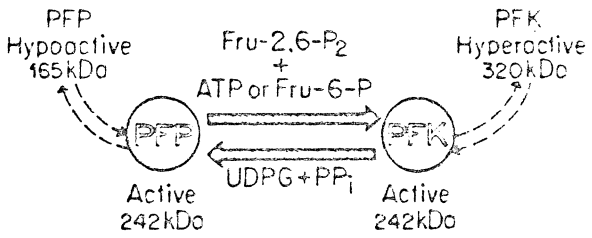

Figure 25: Facteurs intervenant dans la conversion de la PFP en PFK de l'épinard. Pour plus de détails, voir Balogh et al. (1984).

Le F6P diminue l'effet inhibiteur du Pi (Ashihara et Stupavska, 1984) et augmente l'activation par le F2,6P2 de la PFP (Kombrink et al., 1984; Ashihara et Stupavska, 1984, van Schaftingen et al., 1982).

Finalement, on peut signaler que la PPi-PFK n'as pas été détectée dans les cellules animales, malgré la tentative malheureuse de Wong et al. (1984), Kruger et Dennis (1985) ayant montré qu'il s'agissait très probablement d'un artefact.

7.2.3 Activation de l'UDP-glucose phosphorylase par le F2,6P2

L'UDP-Glc (uridine 5'-diphosphate glucose) est le plus abondant des sucres nucléotidiques chez les êtres vivants (Feingold et Avigad, 1980; Nikaido et Hassid, 1971). Chez les végétaux l'UDP-Glc participe à la synthèse de la paroi et du saccharose. Les travaux qui le concerne ne s'occupent pratiquement que des voies de sa synthèse, malgré l'importance de ce métabolite.

C'est Metzler (1977) qui a suggéré en premier que la dégradation de l'UDP-Glc pouvait se faire par l'action d'une UDP-glucose phosphorylase ayant la réaction suivante:

$$Pi + UDP\text{-}Glc \longrightarrow UDP + \text{glucose-1-phosphate (G1P)}$$

On peut noter que la réaction "inverse":

$$UTP + G1P \longrightarrow UDP\text{-}Glc + PPi,$$

est catalysée par une enzyme spécifique, l'UDP-glucose pyrophosphorylase.

Ce n'est qu'en 1983 que Gibson et Shine (1983) ont caractérisé pour la première fois l'activité UDP-Glc phosphorylase chez la pomme de terre.

L'enzyme est spécifique pour le Pi et l'UDP-Glc avec des Km respectifs de 7,6 et 1,1 mM.

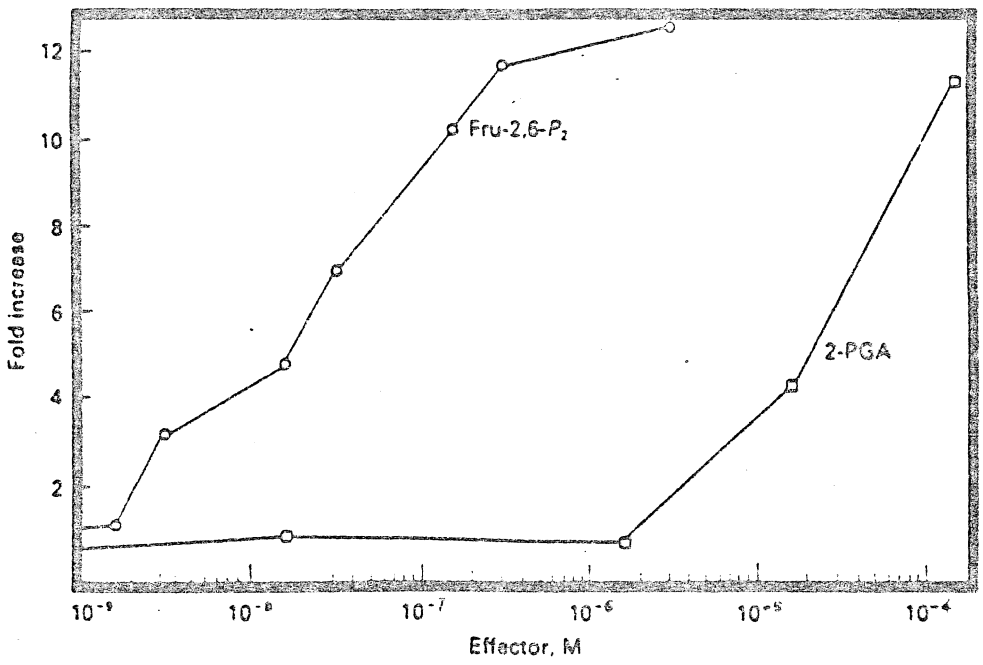

Figure 26: Effet de la concentration de F2,6P2 (o) et de 2 PGA (□) sur l'activité de l'UDP-Glc phosphorylase. D'après Gibson et Shine (1983).

L'UDP-glucose phosphorylase est activée par le F2,6P2 plus de 10 fois avec une concentration dans la gamme μ molaire de ce régulateur (fig. 26).

L'importance d'un tel résultat réside dans la possibilité que le F2,6P2 agisse de façon concertée sur d'autres voies métaboliques que celles de la gluconéogénèse et de la glycolyse.

Cependant, il faut noter que jusqu'à présent aucun autre travail n'a été publié pour confirmer ou infirmer ces résultats.

7.2.4 Inhibition de la 6-phosphogluconate déhydrogénase (6PGDH) du ricin par le F2,6P2

La 6PDGH catalyse la réaction irréversible suivante:

$$\text{6-gluconate} + NADP^{+} \longrightarrow \text{D-ribulose-5-phosphate} + NADPH$$

Il s'agit de la deuxième réaction irréversible qui caractérise le début de la voie métabolique dite des pentoses phosphates (PPP).

Une communication de Miernyk et al. (1984), semble suggérer que le F2,6P2 inhibe la 6PGDH extraite de l'endosperme de la graine de ricin. Toutefois, le Ki (constante de dissociation du complexe enzyme-inhibiteur) est de l'ordre de 10 μ M pour le F2,6P2. A titre de comparaison le Ki du F2,6P2 pour la FBCc de l'épinard (cf. fig. 21) est de 0,13 μ M.

L'inhibition de la 6PGDH par le F2,6P2 est d'un très grand intérêt, mais nécessite une confirmation supplémentaire et des travaux plus détaillés.

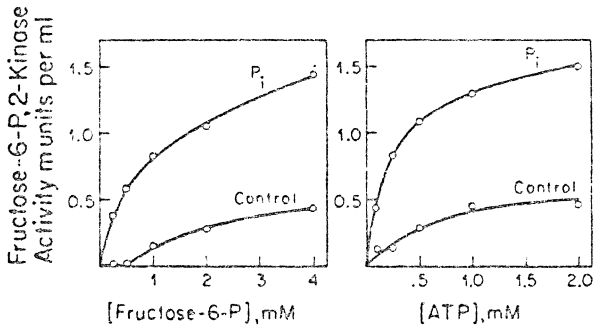

Figure 27: Effet du Pi sur l'activité de la PFK2 cytoplasmique de l'épinard. D'après Cseke et Buchanan (1983).

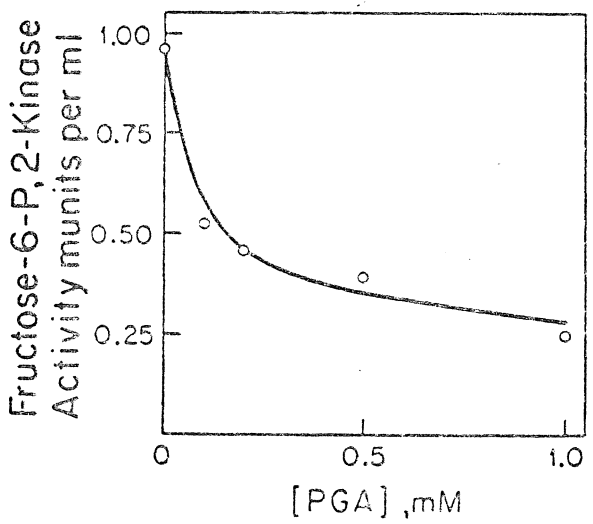

Figure 28: Inhibition de la PFK2 par le ~~Pi~~ PGA (5 mM). D'après Cseke et Buchanan (1983).

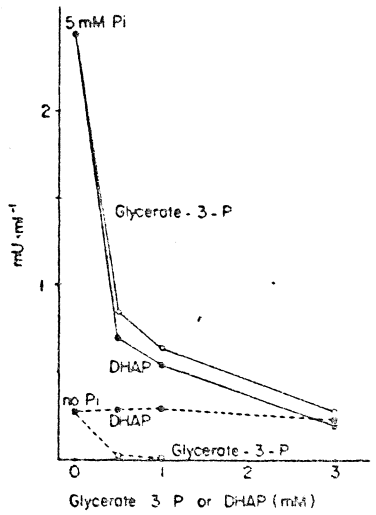

Figure 29: Inhibition de la PFK2 par le dihydroxy-acétone phosphate (DHAP) à différentes concentrations. Le phosphate (Pi) est ajouté à une concentration de 0 (▣) et 5 (◍) mM., le 3-PGA a été ajouté pour comparaison (□ , ○). D'après Stitt et al., 1984.

7.3 Propriétés de la PFK2/FBP2 végétale

D'après les résultats présentés au § 7.1, il paraît évident qu'il existe des enzymes pouvant synthétiser et dégrader le F2,6P2 chez les végétaux.

L'activité PFK2 a été mise en évidence et caractérisée chez l'épinard (Cseke et Buchanan, 1983). Elle catalyse la réaction suivante:

$$F6P + ATP \longrightarrow F2,6P2 + ADP$$

L'enzyme qui est localisée dans le cytoplasme des cellules du parenchyme, est spécifique en ce qui concerne ses substrats (Km pour ATP: 1,25 mM et Km pour F6P: 5,8 mM).

Le Pi est un activateur puissant de la PFK2, il augmente l'affinité de cet enzyme pour ses substrats (Ka ATP: 0,26 mM et Ka F6P: 0,64 mM) et la vitesse maximale de 1,5 fois (fig. 27).

Le PGA est un inhibiteur très actif (fig. 28) et est un antagoniste du Pi.

Aucun effet sur l'activité PFK2 n'a pu être observé avec les thioredoxines réduites ou les disulfides oxydés. De même l'activité enzymatique n'est pas modifiée si on incube la PFK2 en présence de la sous-unité catalytique protéine kinase active du coeur de boeuf.

Des études plus détaillées (Stitt et al., 1984) qui ont tenu compte des mélanges et des concentrations approximatives des effecteurs et substrats impliqués *in vivo* dans ces réactions, ont confirmé l'effet inhibiteur du PGA sur la PFK2, mais ont montré également un effet inhibiteur du DHAP en présence de Pi (le DHAP réverse l'activation du Pi, fig. 29). De plus le F6P peut être considéré comme un activateur, car en présence de Pi, il change la cinétique enzymatique normalement sigmoïdale en hyperbolique (Stitt et al., 1984).

Substrate affinity and maximal velocity of cytosolic Fru-2,6-P_2ase from spinach leaves

Substrate	Substrate required for half maximal velocity ($S_{0.5}$ μM)	Maximal velocity ($V_{max.}$, munits/mg)[a]
Fru-2,6-P_2	0.6	25.5
Fru-1,6-P_2	15.0	6.7
Glu-2,6-P_2	18.2	3.2

[a] One unit = The amount of enzyme which catalyzes 1 μmol Fru-6-P formation/min in the spectrophotometric assay

Table 4: Affinité (So.5) et vitesse maximale (Vmax) de la FBP2 de feuille d'épinard pour différents substrats. D'après Cseke et al. (1983).

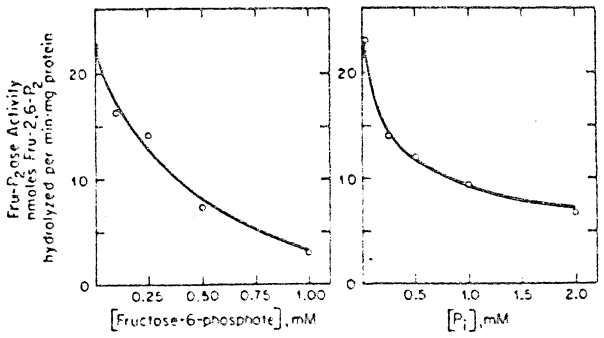

Figure 30: Inhibition de la FBP2 d'épinard par ses produits. D'après Cseke et al. (1983).

L'activité FBP2 a également été caractérisée chez l'épinard (Cseke et al., 1983). Elle catalyse la réaction suivante:

$$F2,6P2 + H_2O \longrightarrow F6P + Pi$$

Cette enzyme est aussi localisée dans le cytoplasme des cellules du mésophylle et copurifie toujours avec l'activité PFK2. Ce dernier résultat suggère qu'il s'agit aussi, comme chez les cellules animales, d'une même et seule protéine, mais bifonctionnelle.

L'affinité de la FBP2 pour le F2,6P2 est élevée (Km: 0,6 µ M), elle possède une bonne spécificité pour le F2,6P2 en comparaison du G1,6P2 et du F1,6P2 (table 4).

La FBP2 est fortement inhibée par ses produits, à savoir le F6P et le Pi (fig. 30).

L'activité FBP2 n'est pas non plus modifiée si on l'incube avec une protéine kinase qui phosphoryle la PFK2/FBP2 animale.

Ces deux activités (PFK2/FBP2) ont également été démontrées chez des plantules de ricin, où elles possèdent des caractéristiques cinétiques et de régulation tout à fait similaires à celles de l'épinard (Kruger et Beevers, 1985).

De même, chez le maïs (plante en C_4), les activités PFK2/FBP2 qui sont localisées exclusivement dans les cellules du mésophylle, possèdent des caractéristiques semblables quoique non identiques à celles de l'épinard (Soll et al., 1985). Parmi les différences on peut citer le fait que le phosphoénolpyruvate (PEP) est un inhibiteur important de la PFK2, mais aussi de la FBP2. Le DHAP, le PGA, l'UDP-Glc, le pyruvate et le malate sont des inhibiteurs de la FBP2.

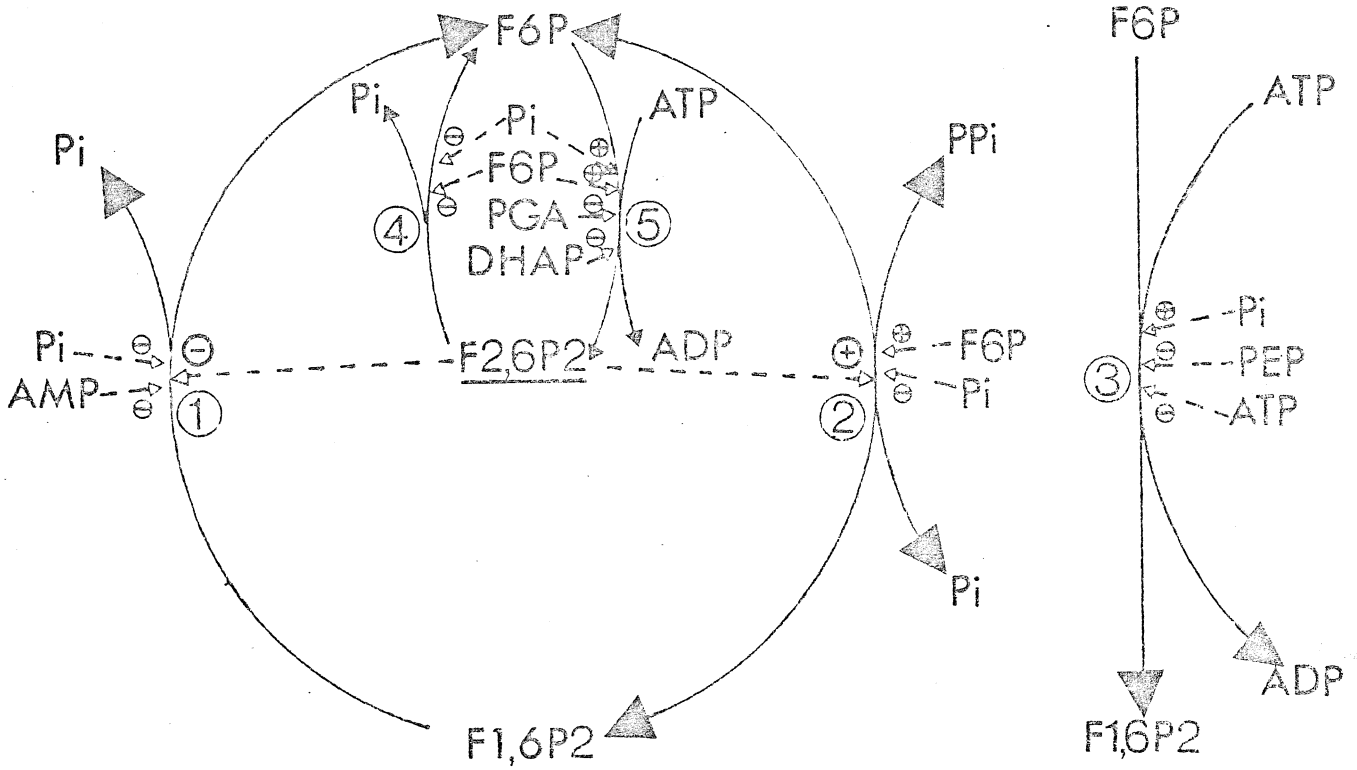

Figure 31: Résumé des effecteurs régulant les activités PFK2 (4) et FPB2 (5). (1) FBPc, (2) PPi-PFK, (3) ATP-PFK. Abbréviations: voir fig. 1 et fig. 16.

8 CONCLUSION

Chez les végétaux, et plus particulièrement dans une cellule du mésophylle de l'épinard, la situation après la découverte du F2,6P2, en ce qui concerne le cycle essentiel du F1,6P2/F6P, peut être résumée par le schéma de la figure 31. Actuellement la plupart des auteurs semblent oublier premièrement, la présence malgré tout d'ATP-PFK (insensible au F2,6P2), et deuxièmement, le fait que l'activité PFP est réversible (cf. schéma analogue par Kruger et Beevers, 1985). Il est vrai que ces ommissions ou oublis permettent d'élaborer plus aisément une théorie du rôle du F2,6P2 très inspirée de celle qui a été découverte chez les animaux.

Ainsi lorsque la lumière est donnée, le chloroplaste exporte du DHAP (cf. fig. 16) qui s'équilibre (ce point restant à vérifier) avec le PGA. La concentration de PGA augmente conjointement à celle du DHAP de sorte à inhiber la synthèse de F2,6P2 (fig. 31, point 5). La concentration de F2,6P2 diminuera, car le F2,6P2 est soumis à l'action de la FBP2 (fig. 31, point 4). Dans cette situation, l'inhibition de la FBP cytoplasmique par le F2,6P2 est enlevée, ce qui favorise une gluconéogénèse plus active pour la synthèse finale de saccharose. Si ce modèle explique la diminution rapide du F2,6P2 effectivement observée dans les feuilles d'épinard lors du "light-on" lumineux, il ne permet pas de comprendre pourquoi après environ 30 min. à 1 heure en lumière, le F2,6P2 augmente à nouveau (cf. fig. 17), ni pourquoi après cette augmentation, le niveau de F2,6P2 diminue rapidement à l'obscurité (cf. fig. 17).

En fait, si l'on peut très certainement considérer remarquable le fait d'avoir découvert le F2,6P2 et les activités enzymatiques associées, aussi bien chez les animaux que les végétaux, les connaissances actuelles en biochimie végétale sont encore trop fragmentaires pour en apprécier le rôle exact.

Cette situation est due à deux raisons principales. La première est d'ordre quantitative. Il semble évident que les moyens investis et le

nombre de chercheurs qui s'occupent de ce sujet est beaucoup plus grand dans le domaine animal que végétal. Qu'il suffise pour s'en convaincre de savoir que le nombre de publications en biologie animale doit atteindre environ 200, alors qu'il n'y en a à peine 30 en biologie végétale. Mais cette explication ne saurait suffire. En effet, si la découverte du F2,6P2 chez les animaux s'explique bien par la nécessité logique et rationnelle de résoudre un problème bien précis au niveau du cycle F1,6P2/F6P, une telle nécessité précise chez les végétaux, étant donné les connaissances fragmentaires de l'époque, ne se justifie pas. Dès lors, et l'histoire le prouve, la découverte du F2,6P2 chez les végétaux résulte d'une "banale" diffusion des connaissances et des techniques de la biochimie cellulaire animale vers celle végétale. Dans cette perspective on peut comprendre le paradoxe de la découverte de l'activité PFP et l'absence, pour le moment, d'un rôle déterminé pour cette enzyme, qui, manifestement, doit être important.

Finalement, il est nécessaire de souligner une observation importante. Lorsqu'on compare le système PFK2/FBP2 animal et végétal, on est surpris par une différence fondamentale: chez les végétaux le système PFK2/FBP2 paraît, il est vrai que des travaux supplémentaires seraient largement nécessaires, n'être régulé que par des effecteurs "métaboliques", tels les trioses-phosphates, le F6P et le Pi. On peut donc dire que le F2,6P2 fait partie d'un système de relai d'information entre le chloroplaste et le cytoplasme dont la fonction est, semble-t-il, celle d'harmoniser les fonctions intracellulaires que sont la photosynthèse et la production de saccharose, pour le moins. En revanche, chez les animaux, il existe un système de phosphorylation-déphosphorylation qui est essentiellement mis en jeu. Ce système est enclenché par un élément extracellulaire (hormone), le F2,6P2 est donc un relai intracellulaire d'un signal extracellulaire.

Cet aspect de biologie comparative accentue encore chez les végétaux le rôle prédominant que peut jouer le chloroplaste qui, outre sa fonction nutritionnelle classique, semble être un intermédiaire privilégié entre l'environnement et le végétal.

9 BIBLIOGRAPHIE

9.1 Bibliographie des chapitres 1 à 6; partie animale

Avigad, G. (1981) B.B.R.C., 102: 985-991

Bosca, L., Aragon, J.J., Sols, A. (1982) B.B.R.C., 106: 486-491

Bruni, P., Farnararo, M., Vaska, V., D'Alessandro, A. (1983) FEBS lett., 159: 39-42

Castano, J.G., Wieto, A., Feliu, J.E. (1979) J.B.C., 254: 5576-5579

Chaekal, O.K., Boaz, J.C., Sugano, T., Harvis, R.A. (1983) Arch. Biochem. Biophys., 225: 771-778

Clarke, S.D., Watkins, P.A., Lane, M.D. (1979) J. Lipid. Res. 20: 974-985

Claus, T.H., El-Maghrabi, M.R., Riou, J.P., Pilkis, S.J. (1980) Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol., 39: 1670

Claus, T.H., Schlumpf, J.R., El-Maghrabi, M.R., Pilkis, J., Pilkis, S.J. (1980a) P.N.A.S. USA, 77: 6501-6506

Claus, T.H., Schlumpf, J.R., Pilkis, J., Johnson, R.A., Pilkis, S.J. (1981) B.B.R.C., 98: 359-366

Claus, T.H., Schlumpf, J.R., El-Maghrabi, M.R., Mc Grane, M., Pilkis, S.J. (1981a) B.B.R.C., 100: 716-723

Claus, T.H., Schlumpf, J.R., El-Maghrabi, M.R., Pilkis, S.J. (1982) J.B.C., 257: 7541-7548

Claus, T.H., Pilkis, S.J. (1982) B.B.R.C., 109: 664-668

Claus, T.H., El-Maghrabi, M.R., Regen, D.M., Stewart, H.B., Mc Grane, M., Kountz, P.D., Nyfeler, F., Pilkis, J., Pilkis, S.J. (1984) Curr. Top. Cell. Reg., 23: 57-86

Ekman, P., Dahlquist-Edberg, V. (1981) B.B.A., 662: 265-270

El-Maghrabi, M.R., Claus, T.H., Pilkis, J., Pilkis, S.J. (1981) B.B.R.C., 107: 1071-1077

El-Maghrabi, M.R., Claus, T.H., Pilkis, J., Pilkis, S.J. (1982) P.N.A.S. USA, 79 315-319

El-Maghrabi, M.R., Claus, T.H., Pilkis J., Fox, E., Pilkis, S.J. (1982a) J.B.C., 257: 7603-7607

El-Maghrabi, M.R., Fox, E., Pilkis, J., Pilkis, S.J. (1982b) B.B.R.C., 105: 794-802

Engström (1978) Curr. Top. Cell. Regul., 13, 29-51

Foe, L.G., Kemp, R.G. (1982) J.B.C., 257: 6368-6372

Furuya, E., Uyeda, K. (1980) J.B.C., 255: 11656-11659

Furuya, E., Uyeda, K. (1981) J.B.C., 256: 7109-7122

Furuya, E., Yokoyama, M., Uyeda, K. (1982) P.N.A.S. USA, 79: 325-329

Ganson, N.J., Fromm, H.J. (1982) B.B.R.C., 108: 233-239

Hers, M.G., Van Schaftingen, E. (1982) Biochem., J., 206: 1-12

Hesbain-Frisque, Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1981) Eur. J. Bioch., 117: 325-327

Heylen, A., Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1982) FEBS Lett., 143: 141-143

Hue, L., Blackmore, P.E., Exton, J.H. (1981) J.B.C., 256: 8900-8903

Hue, L., Blackmore, P.E., Shikama, M., Robinson-Steiner, A., Exton, J.H. (1982) J.B.C., 257: 4308-4313

Hue, L., van de Werve, G. (1982) FEBS lett., 145: 263-266

Kagimoto, T. & Uyeda, K. (1979) J.B.C., 254: 5584-5587

Keele, C.A. & Neil, E. (1971) Samson Wright's Applied Physiology 12th ed. Oxford University Press

Lawson, J.W.R., Guynn, R.W., Cornell, W., Veech, R.L. (1976) in Gluconegenesis (Mehlman, M.A. & Hanson, R. eds) pp. 481-512. John Wiley & Sons, N.-Y.

Lederer, B., Vissers, S., Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1981) B.B.R.C., 103: 1281-1287

Lederer, B., Hers, H.G. (1984) Biochem. J., 217: 709-714

Lehninger, A.L. (1975) Biochemistry Worth Publishers, Inc.

Mac Grane, M.M., El-Maghrabi, M.R., Pilkis, S.J. (1983) J.B.C., 258: 10445-10454

Malaisse, W.J., Malaisse-Lagae, F., Sener, A. (1981) FEBS Lett., 135: 203-206

Marais, F., Hosey, M.M., Riquelme, P.T., Kemp, R.G. (1979) J. Supramol. Struct. Suppl. 3: 25

Marais, F., Edelstein, I., Rittenhouse, J. (1984) B.B.R.C., 119: 1103-1108

Miyatake, K., Kuramoto, Y., Kitaoka, S. (1984) B.B.R.C., 122: 906-911

Moore, W.W. (1976) in Physiology 4th ed. (E.E. Selkurt ed.) Little, Brown & Co.

Neely, P., El-Maghrabi, M.R., Pilkis, J., Claus, T.H. (1981) Diabetes, 30: 1062-1064

Nimmo, H.G., Tripton, K.F. (1975) Biochem. J., 145: 323-334

Pauwels, P.J., Trouet, A. (1984) Neurosci. lett., 46: 173-177

Pilkis, S.J., Schlumpf, S.R., Pilkis, J., Claus, T.H. (1979) B.B.R.C., 88: 960-967

Pilkis, S.J., El-Maghrabi, M.R., Pilkis, J., Claus, T.H., Cumming, D.A. (1981) J.B.C., 256: 3171-3174

Pilkis, S.J., El-Maghrabi, M.R., Pilkis, J., Claus, T.H., (1981a) J.B.C., 256: 3619-3622

Pilkis, S.J., El-Maghrabi, M.R., Mc Grane, M.M., Pilkis, J., Claus T.H. (1981b) J.B.C., 256: 11489-11495

Pilkis, S.J., El-Maghrabi, M.R., Mc Grane, M.M., Pilkis, J., Claus T.H. (1982) Fed. Proc. 41: 2623-2628

Pilkis, S.J., Schlumpf, J.R., El-Maghrabi, M.R., Pilkis J., Claus T.H. (1982b) Cold Spring Harbor Conf. Cell Proliferation Vol. 8, protein phosphorylation, Book A-13, pp. 547-560

Pilkis, S.J., El-Maghrabi, M.R., Pilkis, J., Claus, T.H. (1982c) Arch. Biochem. Biophys., 215: 379-389

Pilkis, S.J., El-Maghrabi, M.R., Mc Grane, M., Pilkis, J., Fox, E., Claus, T.H. (1982d) Mol. Cell. Endocrinol., 25: 245-266

Pilkis, S.J., Chrisman, T.D., El-Maghrabi, M.R., Colosia, A., Fox, E., Pilkis, J., Claus, T.H. (1983) J.B.C., 258: 1495-1503

Pilkis, S.J., Chrisman, T.D., Burgess, B., Mc Grane, M., Colosia, A., Pilkis, J., Claus, T.H., El-Maghrabi, M.R. (1983a) Adv. Enzyme Regul., 21: 147-173

Pontremoli, S., Grazi, E., Accorsi, A. (1968) Biochemistry, 7: 3628-3633

Pontremoli, S., Melloni, E., Michetti, M., Salamino, F., Sparatore, B., Horecker, B.L. (1982) Arch. Biochem. Biophys., 218: 609-613

Reinhart, G.D. & Lardy, H.A. (1980) Biochemistry 19: 1477-1484

Richards, C.S., Uyeda, K. (1980) B.B.R.C., 97: 1535-1540

Richards, C.S., Furuya, E., Uyeda, K. (1981) B.B.R.C., 100: 1673-1679

Richards, C.S., Uyeda, K. (1981) J.B.C. 257: 8854-8861

Richards,: C.S., Uyeda, K. (1982) B.B.R.C. 109: 394-401

Richards, C.S., Yokoyama, M., Furuya, E., Uyeda, K. (1982) B.B.R.C., 104: 1073-1079

Rider, M.H., Hue, L. (1984) FEBS lett., 176: 484-488

Riou, J.-P., Claus, T.H., Flockhart, D.A., Corbin, J.D., Pilkis, S.J. (1977) P.N.A.S. USA, 74: 4615-4619

Riquelme, P.T., Hosey, M.M., Marais, F., Kemp, R.-G. (1978) B.B.R.C., 85: 1480-1487

Sarngadhavan, M.G., Watanabe, A., Pogell, B.H. (1969) Biochemistry, 8: 1411-1419

Schimassek, K.M. & Mitzkat, M.S. (1963) Biochem. Z. 237: 510-518

Smith, E.L., Hill, R.L., Lehman, I.R., Lefkowitz, R.S., Handler, P., White, A. (1983) Principles of Biochemistry: general aspects 7th ed. Mc Graw & Hill

Sobrino, F., Gualberto A. (1985) FEBS lett., 182: 327-330

Soball, S., Scholz, R., Heldt, H.W. (1978) Eur. J. Biochem. 87: 377-390

Sochor, M., Greenbaum, A.L., Mc Lean, P. (1984) FEBS lett., 169: 12-16

Sochor, M., Gonzalez, A.M., Mc Lean, P. (1984a) B.B.R.C. 121: 8-13

Soling, H.D., Kuduz, J., Brand, I.D. (1981) FEBS lett., 130: 390-413

Sols, A., Castano, J.G., Aragon, J.J., Domenech, C., Lazo, P.A., Nieko, A. (1981) in Metabolic interconversion of enzymes (Holzer H. ed., pp 111-123, Springer-Verlag, N.-Y.

Sorenson-Ziganke, B., Hofer, H.W. (197é) B.B.R.C., 90: 204-208

Storey, K.B. (1983) FEBS lett., 161: 265-268

Storey, K.B. (1984) Arch. Biochem. Biophys., 235: 665-672

Storey, K.B. (1985) FEBS lett., 181: 245-248

Stryer L. (1975) Biochemistry. W.H. Freeman & Co.

Tewjani, G.A., Pedrosa, F.O., Pontremoli, S., Horecker, B.L. (1976) Arch. Biochem. Biophys. 17: 253-264

Tewjani, G.A., (1983) Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol., 54: 122-194

Turner, C.D. & Bagnara, S.T. (1976) General Endocrinology. W.B. Saunders & Co.

Uyeda, K., Furuya, E., Luby, L. (1981a) J.B.C., 256: 8394-8399

Uyeda, K., Furuya, E., Sherry, A.D. (1981) J.B.C., 256: 8679-8684

Uyeda, K., Furuya, E., Richards, C.S., Yokoyama, M. (1982) Mol. Cell. Biochem., 48: 97-120

Van Schaftingen, E., Hue, L., Hers, H.G. (1980) Biochem. J., 192: 887-895

Van Schaftingen, E., Hue, L., Hers, H.G. (1980a) Biochem. J., 192: 897-901

Van Schaftingen, E., Hue, L., Hers, H.G. (1980b) Biochem. J., 192: 263-271

Van Schaftingen E., Hers, H.G. (1980) B.B.R.C., 96: 1524-1531

Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1981) P.N.A.S. USA, 78: 2861-2863

Van Schaftingen, E., Jett, M.F., Hue, L., Hers, H.G. (1981) P.N.A.S. USA, 78: 3483-3486

Van Schaftingen, E., Davies, D.R., Hers, H.G. (1981a) B.B.R.C., 103: 362-368

Van Schaftingen, E., Hers, H.G., (1981a) B.B.R.C., 101: 1078-1084

Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1981b) Eur. J. Biochem., 117: 319-323

Van Schaftingen, E., Davies, D.R., Hers, H.G. (1982) Eur. J. Biochem., 124: 143-149

Yokoyama, M., Furuya, E., Uyeda, K. (1982) B.B.R.C., 105: 264-270

9.2 Bibliographie, chapitre 7; partie végétale

Ap Rees (1980) in The Biochemistry of Plants (J. Preiss ed.) vol. 3, pp. 1-42. Academic Press

Ashihara, H., Stupavska, S., (1984) J. Plant Physiol., 116: 241-252

Avigad, G. (1981) B.B.R.C., 102: 985-991

Balogh, A., Wong, J.H., Wötzel, C., Soll., J., Cseke, C., Buchanan, B.B. (1984) FEBS lett., 169: 287-292

Carnal, N.W., Black, C.C. (1975) B.B.R.C., 86: 20

Carnal, N.W., Black, C.C. (1983) Plant Physiol., 71: 150-155

Cseke, C., Weeden, N.F., Buchanan, B.B., Uyeda, K. (1982) P.N.A.S. USA, 79: 4322-4326

Cseke, C., Buchanan, B.B. (1983) FEBS lett., 155: 139-142

Cseke, C., Stitt, M., Balogh, A., Buchanan, B.B. (1983) FEBS lett., 162: 103-106

Feingold, D.S., Avigad, G. (1980) in the Biochemistry of Plants (ed. J. Preiss) vol.3: pp. 101-169, Academic Press

Gancedo, M. (1984) FEBS lett., 175: 369-370

Gibson, D.M., Shine, W.E. (1983) P.N.A.S. USA, 80: 2491-2494

Harbron, S., Foyer, C., Walker, D.A. (1981) Arch. Biochem. Biophys., 212: 237-246

Herzog, B., Stitt, M., Heldt, H.W. (1984) Plant Physiol., 75: 561-565

Kombrink, E., Kruger, N.J., Beevers, H. (1984) Plant Physiol., 74: 395-401

Kruger, W.J., Dennis, D.T. (1985) B.B.R.C., 126: 320-326

Kruger, W.J., Beevers, H. (1984) Plant Physiol., 76: 49-54

Kruger, W.J., Beevers, H. (1985) Plant Physiol., 77: 358-364

Kruger, W.J., Dennis, D.T. (1985a) Plant Physiol., 78: 645-648

Lederer, B., Vissers, S., Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1981) B.B.R.C., 103: 1281-1287

Metzler, D.E. (1977) Biochemistry the chemical reactions of living cells, Academic Press

Miernyk, J.A., Mac Dougall, P.S., Dennis, D.T. (1984) Plant Physiol., 76: 1093-1094

Nikaido, H., Hassid, W.Z. (1971) Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., 26: 351-483

O'Brien, W.E. Bowien, S., Wood, H.G. (1975) J.B.C., 250: 8690

Reeves, R.E., South, D.J., Blytt, H.J., Warren, C.G. (1979) J.B.C., 249: 7737

Sabularse, D.C., Anderson, R.L. (1981) B.B.R.C., 100: 1423-1429

Sabularse, D.C., Anderson, R.L. (1981a) B.B.R.C., 103: 848-855

Soll, J., Wötzel, C., Buchanan, B.B. (1985) Plant Physiol., 77: 999-1003

Stitt, M., Mieskes, G., Soling, H.D., Heldt, M.W. (1982) FEBS lett., 145: 217-222

Stitt, M. Gerhardt, R., Kuerzel, B., Heldt, H.W. (1983) Plant Physiol., 72: 1139-1141

Stitt, M., Cseke, C., Buchanan, B.B. (1984) Eur. J. Biochem., 143: 89-93

Stitt, M., Heldt, H.W. (1985) Planta, 164: 179-188

Turner, J.P. & Turner, D.H. (1980) in Biochemistry of Plants (ed. D.D. Davies) vol. 2. p. 279, Academic Press

Van Schaftingen, E., Jett, M.F., Hue, L., Hers, H.G. (1981) P.N.A.S. USA, 78: 3483-3486

Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1981) P.N.A.S. USA, 78: 2861-2863

Van Schaftingen, E., Lederer, B., Bartrons, R., Hers, H.G. (1982) Eur. J. Biochem., 129: 191-195

Van Schaftingen, E., Hers, H.G. (1983) FEBS lett., 164: 195-200

Wong, J.H., Balogh, A., Buchanan, B.B. (1984) B.B.R.C., 121: 842-847

Wu, M.-X., Smyth, D.A., Black, C.C. (1984) P.N.A.S. USA, 81: 5051-5055

Yan, J.-F.J., Tao, M. (1984) J.B.C., 259: 5087-5092