

UE 1B :  
Biomolécules, génome, bioénergétique,  
métabolisme

Fiche de cours

**Enzymologie**  
**Coenzymes**

- ★ Notion tombée 1 fois au concours
- ★★ Notion tombée 2 fois au concours
- ★★★ Notion tombée 3 fois ou plus au concours

| LES ENZYMES |   |
|-------------|---|
|             | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Protéine douée d'activité catalytique spécifique</li> <li>▪ Permet aux réactions biochimiques de se produire à vitesse élevée et de façon très spécifique</li> </ul>   |
|             | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Enzymes <b>homogènes</b> entièrement protéiques                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Ex : ribonucléase ou fumarase</li> </ul> </li> <li>▪ Enzymes à <b>coenzymes</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Les plus fréquentes</li> <li>○ Constituées d'une partie protéique ou <b>apoenzyme</b> :                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>– Ne réagit pas chimiquement</li> <li>– Assure la spécificité de la réaction chimique</li> </ul> </li> <li>○ Constituées d'un <b>coenzyme non protéique</b> soit :                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>– Lié de façon <b>covalente</b> à l'enzyme appelé <b>groupement prosthétique</b> ☹</li> <li>Ex : FAD, biotine ou phosphate de pyridoxal</li> <li>– Lié de façon <b>non covalente</b> à l'enzyme appelé <b>cosubstrat</b></li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> |

| INTÉRÊT EN MÉDECINE DE L'ÉTUDE DES ENZYMES |  |
|--|--|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ De nombreuses maladies héréditaires sont dues à un déficit partiel ou total d'une activité enzymatique</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La présence de certaines enzymes dans le sang peut être dosée et permet d'orienter le diagnostic</li> <li>▪ Exemples :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Augmentation forte <b>d'ASAT et ALAT</b> : hépatite virale</li> <li>○ Présence <b>d'amylase et de lipase</b> : pancréatite qui peut être aigüe</li> <li>○ Présence de <b>créatine kinase</b> : atteinte musculaire ou infarctus du myocarde</li> <li>○ Présence de troponine cardiaque I : infarctus du myocarde</li> </ul> </li> </ul> |

| MODE D'ACTION DES ENZYMES  |  |
|--|--|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Région qui permet la <b>fixation du substrat et sa catalyse</b> ☹</li> <li>▪ Région relativement réduite du volume total de l'enzyme qui présente une forme de cavité ou de <b>crevasse hydrophobe</b> : <b>peu d'interactions avec l'eau</b> dans les régions internes de la protéine                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Échanges entre substrat et enzymes beaucoup plus intenses</li> </ul> </li> <li>▪ Constitué de 2 parties :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ le <b>site de liaison</b> ☹ du substrat</li> <li>○ le <b>site catalytique</b> ☹</li> </ul> </li> </ul> |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Enzyme qui hydrolyse la liaison ester de l'acétylcholine</li> <li>▪ Site de fixation chargés (-) permettant la reconnaissance et l'interaction avec la partie chargée (+) du substrat</li> <li>▪ Site catalytique comportant des AA avec 2 sites réactionnels :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ <b>Hydroxyle OH</b> nucléophile de la <b>SER</b></li> <li>○ <b>Noyau imidazole</b> électrophile de <b>HIS</b> qui permettent l'hydrolyse de la liaison ester de l'acétylcholine</li> </ul> </li> </ul> |  |

| MODE D'ACTION DES ENZYMES<br>SITE ACTIF DES ENZYMES |   |   |
|---|---|---|
|   | Modèle de Fischer                               | <ul style="list-style-type: none"> <li>Utilisé pendant longtemps</li> <li>Modèle rigide : <b>Modèle clef-serrure</b></li> </ul>   |
|   | Modèle de Koshland                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>Modèle actuel</li> <li>Modèle <b>dynamique</b> : site actif flexible               <ul style="list-style-type: none"> <li>La fixation du substrat entraîne un changement de conformation de la structure tridimensionnelle de manière à avoir une meilleure adaptation de sa conformation au substrat</li> </ul> </li> <li><b>Modèle de l'ajustement induit</b>, plus proche de la réalité</li> <li><b>Interactions E-S par liaisons faibles majoritairement (liaisons H, Van der Waals) et rarement par liaisons covalentes, transitoires lors de la catalyse</b></li> </ul>  |
|   | Marquage par des réactifs spécifiques de groupe | <ul style="list-style-type: none"> <li>Mise en présence de l'enzyme avec un <b>réactif qui va se lier de manière covalente sur un acide aminé</b> choisi</li> <li>Puis mesure de l'activité enzymatique résiduelle               <ul style="list-style-type: none"> <li>Activité non modifiée indique que l'AA ciblé n'est pas dans le site actif</li> <li>Activité perturbée indique que l'AA ciblé est présent dans le site actif</li> </ul> </li> <li><del>Confirmation possible en présence d'un substrat spécifique de l'enzyme qui permet de protéger le site actif de son inactivation</del></li> <li>Exemple : le DFP cible les sérines présentes dans la cholinestérase               <ul style="list-style-type: none"> <li>Gaz neuroplégique paralysant en bloquant de façon irréversible la cholinestérase</li> </ul> </li> </ul> |
|   | Marquage par des analogues de substrats         | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Substrat de l'enzyme</b> légèrement modifié avec une <b>fonction réactive X</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Fonction réactive X assurant la fixation de l'analogue dans le site actif par une liaison covalente</li> <li>Permet de bloquer le site pour pouvoir l'étudier</li> </ul> </li> <li>Exemple : un analogue de l'ATP et de l'ADP se lie avec les Ser et Tyr de certaines kinases</li> </ul>   |
|   | Méthodes de mutagenèse dirigée                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Mutation du gène qui code pour l'enzyme</li> <li>Expression du gène muté</li> <li>Dosage de l'activité enzymatique de la protéine mutante</li> <li>Permet de connaître l'AA important dans le site actif</li> <li>Permet de confirmer les méthodes chimiques avec les réactifs de marquage</li> </ul>  |

| MODE D'ACTION DES ENZYMES<br>ENERGIE D'ACTIVATION |   |
|---|---|
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Une enzyme ne peut catalyser que les réactions <b>thermodynamiquement possibles</b></li> <li><b>Augmentation la vitesse des réactions sans modifier les concentrations à l'équilibre</b></li> <li>On passe d'un état initial à un état final de moindre énergie : la différence est le <math>\Delta G</math> : variation d'énergie libre standard</li> <li>La réaction passe par un <b>état de transition</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Activé</li> <li>De haute énergie</li> <li>Qui constitue la barrière énergétique</li> </ul> </li> <li>La différence entre l'état initial et l'état de transition est appelée <b>énergie libre d'activation</b></li> <li>En présence d'enzyme, <b>l'énergie libre d'activation à fournir est diminuée</b>, ce qui <b>augmente la vitesse des réactions</b></li> <li>Cet effet est dû à la déformation du substrat par l'enzyme par des interactions faibles</li> <li><b>L'enzyme est retrouvée intacte à la fin de la réaction</b></li> </ul> |

| MODE D'ACTION DES ENZYMES<br>SPÉCIFICITÉ DE L'ACTION ENZYMATIQUE |  |
|--|--|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Spécificité de <b>réaction</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Elle n'est capable de catalyser qu'un seul type de réaction</li> </ul> </li> <li>▪ Spécificité de <b>substrat</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Une enzyme ne peut agir que sur un seul substrat ou une classe de composés possédant en commun une architecture moléculaire commune</li> </ul> </li> </ul> |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La <b>trypsine</b> coupe la liaison peptidique, côté carboxylique, à <b>droite</b>, d'une <b>LYS</b> ou <b>ARG</b> ☹☹☹</li> <li>▪ La <b>chymotrypsine</b> coupe la liaison peptidique à <b>droite</b> des acides aminés aromatiques : <b>PHE, TYR, TRP</b> mais également après <b>MET, LEU, ASN, GLN</b></li> </ul>  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Dépend de la conformation dans l'espace du substrat, et pas uniquement des propriétés chimiques du substrat</li> <li>▪ Certaines enzymes sont capables de <b>distinguer les 2 isomères optiques</b> d'une molécule et de n'agir que sur l'un d'entre eux</li> </ul>   |

| LA CLASSIFICATION INTERNATIONALE DES ENZYMES |  |
|--|--|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <b>Transfert d'électrons</b></li> <li>▪ Nécessité d'avoir obligatoirement <b>2 substrats</b> : 1 oxydé et 1 réduit</li> <li>▪ Exemple : lactico-déshydrogénase <b>LDH</b></li> </ul>  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Transfert de groupements chimiques R d'une molécule A vers une molécule B</li> <li>▪ Sous-classifications en fonction du radical transféré <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Aminotransférases : groupement amine par exemple avec ALAT</li> <li>○ Phosphotransférases : groupement phosphate <ul style="list-style-type: none"> <li>– Appelées kinases si utilisation de l'ATP</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Rupture d'une liaison covalente en présence d'<b>eau</b></li> <li>▪ <b>Réactions déplacées dans le sens de l'hydrolyse</b></li> <li>▪ Sous-classification en fonction de la liaison rompue <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Phosphatase</li> <li>○ Glycosidase</li> <li>○ Estérase</li> <li>○ Peptidase</li> <li>○ Protéase</li> </ul> </li> </ul>  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Addition d'un groupement fonctionnel ou rupture d'une liaison C-C, <b>sans participation d'une molécule d'eau</b> avec</li> <li>▪ Souvent formation d'une double liaison</li> <li>▪ Exemple : déshydratase</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Changement de géométrie</li> <li>▪ Remaniement interne d'une molécule sans modification de la formule brute</li> <li>▪ Exemple : épimérase : un seul carbone asymétrique inversé pour les glucides</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Formation d'une liaison entre 2 atomes, avec élimination d'eau</li> <li>▪ Réactions souvent <b>thermodynamiquement défavorisées, qui nécessitent un couplage</b> avec une hydrolyse fournissant l'énergie nécessaire. Exemple : <math>ATP \rightarrow ADP + P_i</math></li> <li>▪ Exemple : glutamine synthétase</li> </ul>   |

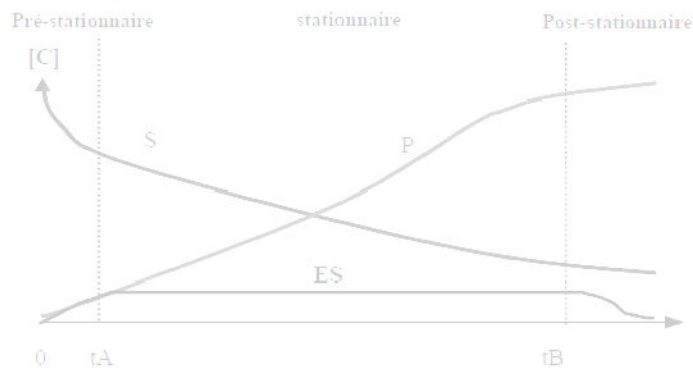
## CINÉTIQUE ENZYMATIQUE

- La cinétique enzymatique est l'étude des **vitesse**s de la réaction enzymatique en réponse à des **changements de conditions expérimentales**
- La réaction enzymatique est symbolisée par le schéma global suivant :



- k1** et **k-2** sont les constantes de vitesse de **formation** du complexe enzyme-substrat ES
- k-1** et **k2** sont les constantes de vitesse de **dissociation** du complexe ES
- L'enzyme est libérée à la fin de la réaction car elle lie le substrat par des **liaisons réversibles**

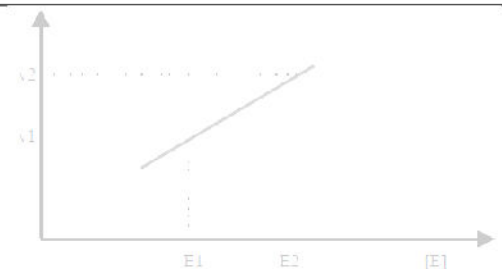
- Phase pré-stationnaire** : phase pendant laquelle se forme le complexe ES. Phase très courte difficilement observable.
- Phase stationnaire** : la **concentration en complexe ES** est **constante**, la vitesse de production de P et de consommation de S est constante. Cette phase dure aussi longtemps qu'il y a du substrat en excès.
- Phase post-stationnaire** : la concentration en complexe ES diminue à cause de la diminution de la concentration en substrat qui devient limitant

CINÉTIQUE ENZYMATIQUE  
EFFETS DE MODIFICATIONS EXPERIMENTALES

- Dans ces conditions, la **concentration en enzyme est fixe**
- Courbe expérimentale **d'allure hyperbolique** ⚡
- La vitesse croît rapidement avec l'augmentation de la concentration en substrat jusqu'à atteindre une asymptote : **vitesse maximale = Vmax**
- A la **constante Vmax**, l'enzyme est **saturée en substrat** : tous les sites actifs sont occupés par une molécule de substrat. **Toutes les enzymes sont sous forme de complexe ES**



- Dans ces conditions, la **concentration en substrat est fixe et en excès**
- Lorsqu'on **augmente la concentration en enzyme**, on observe une **augmentation proportionnelle de la vitesse de la réaction** ⚡⚡
- On obtient ainsi une **droite**



### L'ÉQUATION DE MICHAELIS-MENTEN

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_M} \star \star \star$$

- $K_M$  représente la concentration en substrat pour laquelle  $V = V_{\max}/2$   $\star$
- L'inverse du  $K_M$  exprime l'affinité de l'enzyme pour son substrat  $\star \star$

- $K_M$  est la **constante** de Michaelis :

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

- Courbe hyperbolique
- Peu pratique et peu précise



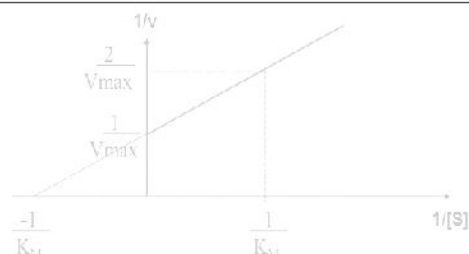
- On obtient une droite
- Intersection avec l'axe des ordonnées

$$= \frac{1}{V_{\max}} \star \star$$

- Intersection avec l'axe des abscisses

$$= -\frac{1}{K_M} \star \star \star$$

- Pente de la droite =  $\frac{K_M}{V_{\max}}$



Equation de la droite :  $\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$

### UNITÉS DE MESURE DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

- Exprimée en  $\mu\text{mol}$  de S ou P par min à 25°C

- Exprimée en UI par mg de protéine

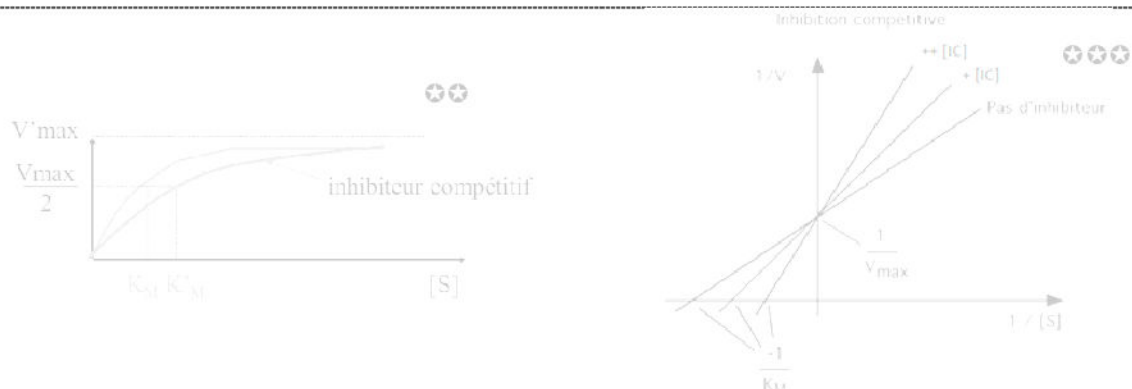
- Exprimée en katal (kat) = mol de S par seconde  $\star \star$
- Plus facile à utiliser : nanokat ( $10^{-9}$  kat).
- 1 UI = 16,6 nkat

| EFFECTEURS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE<br>INFLUENCE DES AGENTS PHYSIQUES |  |  |   |
|--|--|--|---|
|  | Phase ascendante                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>La vitesse augmente avec la température car elle fournit plus d'énergie au système sous forme de chaleur</li> </ul>   | <p>Courbe de dénaturation</p> <p>Courbe d'activation</p> <p>température optimum</p> <p>40°C</p> <p>T°C</p> <p>Effet de la température</p> |
|  | Phase descendante                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Diminution de l'activité due à la <b>dénaturation</b> de l'enzyme : la chaleur lui fait perdre sa fonction</li> </ul>   |   |
|  | température optimale                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Différente pour chaque enzyme</li> <li>La Taq polymérase des bactéries des sources chaudes est résistante à la chaleur (80°C) et permet la PCR, technique de base de la biologie moléculaire</li> </ul>   |   |
|  | pH optimal                             | <ul style="list-style-type: none"> <li>Différent en fonction des enzymes</li> <li>Certaines enzymes sont actives à un pH très acide.<br/>Exemple : pepsine de l'estomac</li> <li>D'autres à pH alcalin.<br/>Exemple : phosphatase alcaline</li> <li>La majorité à pH neutre.<br/>Exemple : trypsine</li> </ul>   | <p>courbe en cloche</p> <p>pH optimal</p> <p>6</p> <p>14</p> <p>pH</p>  |
|  | Effet sur les enzymes et les substrats | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>pH extrêmes peuvent dénaturer les enzymes, en rompant les liaisons de la protéine</b></li> <li>Ionisation des groupements ionisables</li> <li>Ionisation du substrat</li> </ul>  |   |
|  | Cations métalliques                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Monovalents ou divalents</li> <li><b>Activateurs</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Exemple : <math>K^+</math>, <math>Na^+</math>, <math>Mg^{2+}</math>, <math>Ca^{2+}</math></li> </ul> </li> <li>2 classes d'enzymes:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>Métalloenzymes : affinité au métal très élevée : le métal fait partie de l'enzyme</li> <li>Enzymes à métal activateur : le métal n'intervient que lors de la catalyse</li> </ul> </li> </ul> |   |

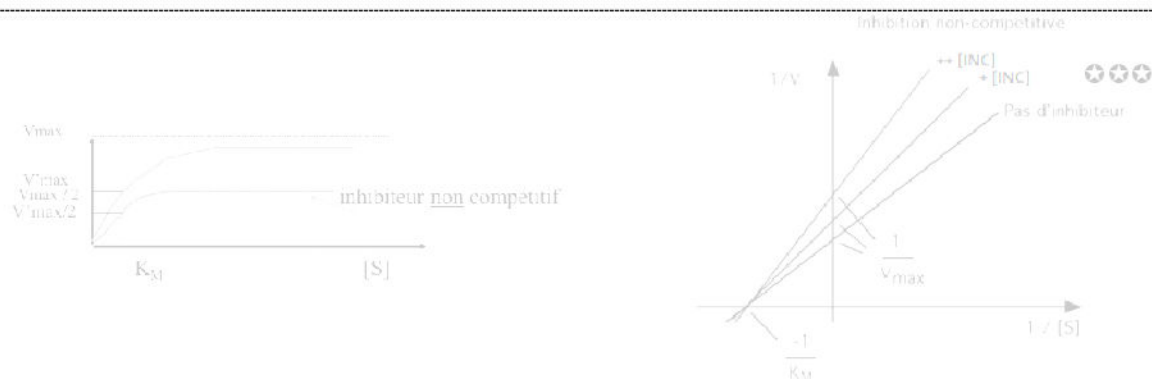
| EFFECTEURS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE<br>LES INHIBITEURS |   |
|---|---|
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Se combinent à l'enzyme</li> <li>S'opposent au déroulement de la réaction</li> </ul>   |
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Contrôle des systèmes biologiques</li> <li>Médicament</li> </ul>   |
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Réversibles</b> : leur effet disparaît lorsqu'ils sont éliminés</li> <li><b>Irréversibles</b> : leur effet persiste lorsqu'ils sont éliminés</li> </ul> |

EFFECTEURS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE  
INHIBITEURS RÉVERSIBLES

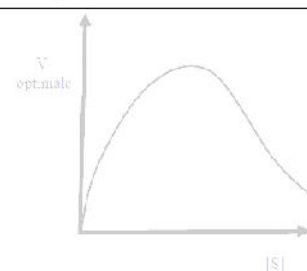
- Analogue structural ☆ du substrat
- Compétition entre l'inhibiteur et le substrat pour la fixation au site actif ☆
- Diminution puis disparition de son effet lorsque les concentrations en substrat sont élevées☆☆☆
- La  $V_{max}$  de l'enzyme n'est pas modifiée☆☆☆
- Le  $K_M$  augmente☆☆☆
- L'affinité apparente diminue



- L'inhibiteur se fixe sur un site différent du site actif ☆ : pas de compétition avec S
- La fixation de cet inhibiteur va déformer le site actif et le perturber ☆
- La  $V_{max}$  est diminuée☆☆☆
- Le  $K_M$  n'est pas modifié☆☆☆



- Cas particulier qui ne concernent que certaines enzymes : cholinestérase par exemple
- A très forte concentration en substrat, l'activité enzymatique diminue à cause de l'encombrement stérique du site actif
- Dans ces conditions, 2 molécules de substrat se fixent sur le site actif : le complexe ESS devient inactif




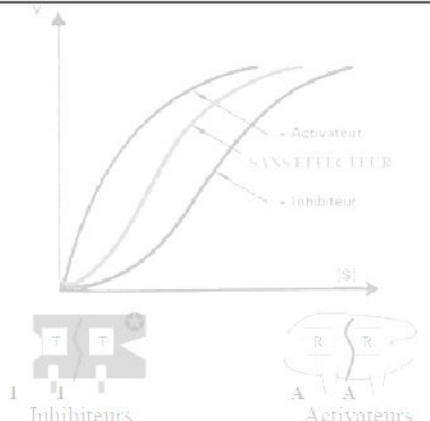
EFFECTEURS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE  
**INHIBITEURS IRRÉVERSIBLES**

|  |   |
|--|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ L'aspirine, acide acétyl-salicylique, est un inhibiteur irréversible des cyclooxygénases                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Acétylation : le groupement acétyl de l'aspirine se fixe de manière covalente sur une SER du site actif des cyclooxygénases. Cela bloque l'activité enzymatique de façon irréversible.</li> <li>○ Les cyclooxygénases initient la synthèse des prostaglandines impliquées dans l'inflammation, la douleur et la fièvre</li> </ul> </li> </ul>                            |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Les substrats-suicide possèdent une <b>analogie structurale avec le substrat</b>, et un <b>groupe fonctionnel supplémentaire</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Formation d'une <b>liaison covalente irréversible</b> avec le site actif</li> </ul> </li> <li>▪ Exemple : La <b>pénicilline</b> est un antibiotique qui tue les bactéries en inactivant la <b>transpeptidase</b>, enzyme synthétisant le peptidoglycane de la paroi bactérienne. La pénicilline réagit avec une SER sur le site actif de l'enzyme</li> </ul> |

 MODÈLE ALLOSTÉRIQUE  
**CINÉTIQUE NON MICHAÉLIENNE**

|  |   |
|--|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La courbe <math>V = f[S]</math> est une <b>sigmoïde</b></li> <li>▪ L'allure de cette courbe est liée à l'<b>effet coopératif</b> du substrat</li> <li>▪ La fixation d'une première molécule de substrat sur une 1<sup>ère</sup> sous-unité de l'enzyme facilite la fixation d'une seconde molécule de substrat sur une 2<sup>e</sup> sous-unité de la même enzyme</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Il existe pour ces enzymes et pour chaque sous-unité                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Une <b>conformation R Relâchée</b> à forte affinité</li> <li>○ Une <b>conformation T Tendue</b> à faible affinité</li> </ul> </li> <li>▪ Plusieurs modèles de passage de T à R :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Selon un <b>modèle concerté</b> : Tout T <math>\rightarrow</math> tout R, modèle de <b>Monod</b>, symétrique</li> <li>○ Selon un <b>modèle séquentiel</b> : Changement T <math>\rightarrow</math> R de chaque sous-unité au fur et à mesure, modèle de <b>Koshland</b>, plus proche de la réalité</li> </ul> </li> </ul> |

 MODÈLE ALLOSTÉRIQUE  
**MODULATEURS DE L'ACTIVITÉ DES ENZYMES ALLOSTÉRIQUES**

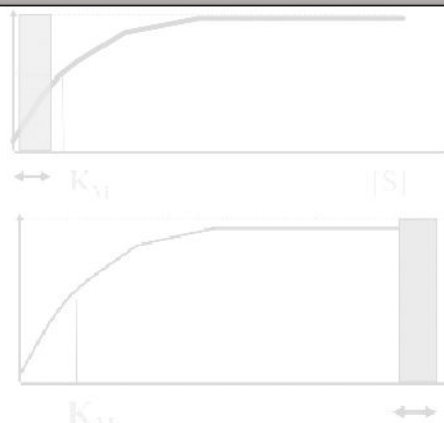
|  |   |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Le substrat lui-même est le modulateur de l'activité enzymatique</li> <li>▪ Le plus souvent, l'effet est <b>positif</b> : la fixation d'une molécule de S permet la forme R</li> <li>▪ L'effet négatif existe également</li> </ul>  |   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Le modulateur est <b>différent de S</b> : il se fixe à un endroit différent.</li> <li>▪ Il peut être <b>positif</b> : <b>activateur allostérique</b> :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Favorise la forme R</li> <li>○ Décalage de la courbe vers la <b>gauche</b> <math>\leftarrow</math> : courbe peut devenir <b>hyperbolique</b></li> </ul> </li> <li>▪ Il peut être <b>négatif</b> : <b>inhibiteur allostérique</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Favorise la forme T</li> <li>○ Décalage de la courbe vers la <b>droite</b> : renforce l'effet sigmoïde</li> </ul> </li> </ul> |  |

MODÈLE ALLOSTÉRIQUE  
MODULATEURS DE L'ACTIVITÉ DES ENZYMES ALLOSTÉRIQUES

- Les **sulfamides** sont des **bactériostatiques** analogues de l'acide p-aminobenzoïque, précurseur de l'acide folique, indispensable aux bactéries
- Des **analogues de bases** comme la 6-mercaptopurine, analogue de l'adénine, inhibent l'activité des polymérases et la division cellulaire : ils sont utilisés en chimiothérapie **anti-cancéreuse**
- Un **inhibiteur de la xanthine oxydase** permettant la formation d'acide urique est utilisé dans le traitement de la **goutte** ou **hyperuricémie**

RÉGULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE : PRÉSERVATION DE L'HOMÉOSTASIE  
RÉGULATIONS AU NIVEAU DU SITE CATALYTIQUE

- Lorsque  $K_M \gg [S]$  les variations de concentration en substrat modifient la vitesse des réactions : **régulation possible** .
- Lorsque  $K_M \ll [S]$  : quelle que soit la variation de concentration en S, la vitesse n'est pas modifiée et sera égale à  $V_{max}$  : **pas de régulation de la vitesse**.



- Les **voies métaboliques** sont généralement contrôlées par des **enzymes allostériques**
- Ces enzymes sont souvent les **premières enzymes des voies métaboliques** : réaction d'engagement dans la chaîne métabolique
- Le **produit final** de cette voie va agir comme **rétrocontrôle négatif** sur cette enzyme allostérique  
= **rétroinhibition** ou **feed-back**

RÉGULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE : PRÉSERVATION DE L'HOMÉOSTASIE  
MODIFICATIONS STRUCTURALES DE L'ENZYME

Phosphorylation /  
déphosphorylation

- Par des kinases en présence d'ATP sur les OH de SER ou THR
- Exemples de la glycogène synthase et pyruvate déshydrogénase plus actives en étant déphosphorylées et de la glycogène phosphorylase plus active en étant phosphorylée

Adénylation

- Transfert d'un adénosyl-phosphate

Méthylations /  
déméthylations

Protéines  
régulatrices

- Activation ou inhibition des protéines qu'elles contrôlent par fixation
- Exemple : calmoduline dont la conformation est modifiée lors de la fixation du calcium. Cela permet au complexe Ca-calmoduline d'activer des enzymes

Hormones

## RÉGULATION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE : PRÉSERVATION DE L'HOMÉOSTASIE

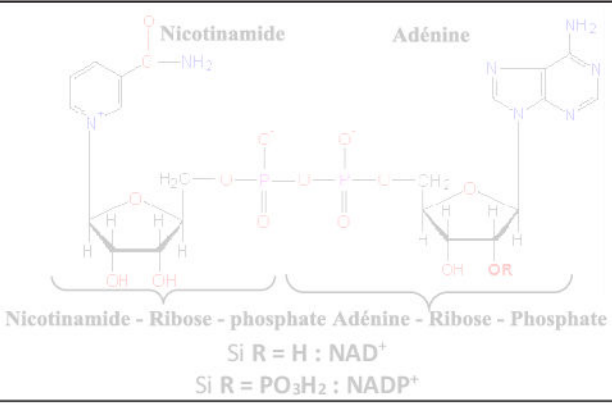
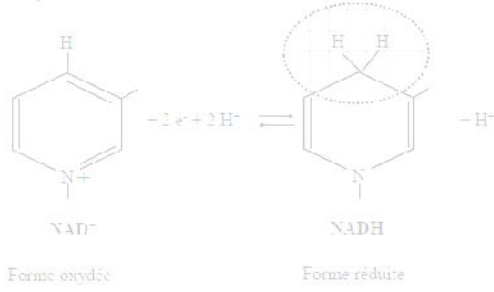
## MODIFICATIONS STRUCTURALES DE L'ENZYME

|  |                                     |  |
|--|-------------------------------------|--|
|  | Fonctionnement                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Certaines enzymes sont synthétisées sous forme inactive ou <b>proenzyme</b> ou <b>zymogène</b></li> <li>Ces enzymes sont activées par <b>protéolyse limitée</b></li> </ul>  |
|  | Exemple des enzymes de la digestion | <ul style="list-style-type: none"> <li>Le trypsinogène est <b>synthétisé inactif</b> dans les cellules du <b>pancréas</b> pour éviter l'autodigestion</li> <li>Le trypsinogène est <b>activé</b> par une <b>entéropeptidase</b> dans l'intestin</li> <li>La trypsine va à son tour cliver et activer d'autres enzymes</li> </ul> <pre> graph TD     Entéropeptidase --&gt; Trypsinogène     Entéropeptidase --&gt; Trypsine     Trypsinogène --&gt; Trypsine     Trypsine --&gt; Chymotrypsinogène     Trypsine --&gt; Proélastase     Trypsine --&gt; procarboxypeptidase     Chymotrypsinogène --&gt; Chymotrypsine     Proélastase --&gt; Elastase     procarboxypeptidase --&gt; carboxypeptidase   </pre> <ul style="list-style-type: none"> <li>Processus qui permet de protéger le tissu d'origine : le pancréas</li> </ul> |
|  |                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Le taux d'enzyme est régulé génétiquement de façon à adapter chaque cellule aux conditions métaboliques</li> </ul>  |

## LES ISOENZYMES

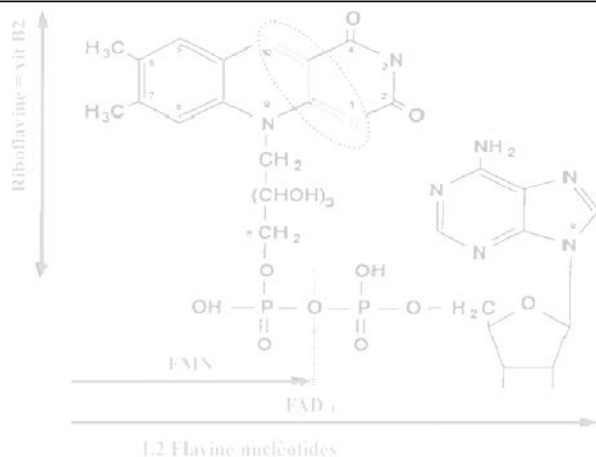
|  |  |
|--|--|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Certaines enzymes existent sous <b>différentes formes moléculaires</b> appelées <b>isoenzymes</b></li> <li>Les isoenzymes diffèrent par leur composition en sous-unités</li> <li>Catalysent les <b>mêmes réactions biochimiques</b></li> <li>Proviennent généralement de duplication de gènes</li> <li>Vont <b>différer par l'affinité vis-à-vis du substrat</b></li> <li>On peut les distinguer par un comportement électrophorétique différent : taille souvent différente</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Réaction réversible</b> : <math>\text{Ac pyruvique} + \text{NADH}, \text{H}^+ \rightarrow \text{Ac Lactique} + \text{NAD}^+</math></li> <li>Enzyme non homogène : deux sous-unités possibles : M pour muscle ou H pour cœur</li> <li>Active sous forme d'un tétramère, avec des combinaisons de sous-unités M et H</li> <li>Il existe 5 isoenzymes différentes :             <ul style="list-style-type: none"> <li>Dans le muscle, on retrouve majoritairement les isoformes <math>\text{M}_4</math> et <math>\text{M}_3\text{H}_1</math></li> <li>Dans le cœur, on retrouve surtout <math>\text{M}_1\text{H}_3</math> et <math>\text{H}_4</math></li> </ul> </li> <li>Ces différentes isoenzymes peuvent être étudiées par électrophorèse : augmentation de <math>\text{H}_4</math> lors d'infarctus.</li> </ul> |

| LES COENZYMES |  |
|---------------|--|
|               | <ul style="list-style-type: none"> <li>Les coenzymes sont des <b>molécules organiques de nature non protéique</b></li> <li>Ils possèdent un faible poids moléculaire</li> <li>Ils sont <b>thermostables</b> la plupart du temps : ce qui les distingue des enzymes</li> </ul>  |
|               | <ul style="list-style-type: none"> <li>Si la liaison à l'apoenzyme est de nature :                             <ul style="list-style-type: none"> <li>Covalente : <b>groupement prosthétique</b>. Ex : phosphate de pyridoxal, biotine, FAD</li> <li>Non covalente : <b>cosubstrat</b>. Ex : NADH, coenzyme A</li> </ul> </li> </ul> |
|               | <ul style="list-style-type: none"> <li>Les coenzymes présentent généralement des <b>structures conjuguées, polycycliques</b>, qui permettent une augmentation de la <b>mobilité électronique</b></li> <li>Lors de la réaction catalytique, les électrons vont se répartir différemment</li> </ul>                                    |
|               | <ul style="list-style-type: none"> <li>De nombreuses <b>vitamines hydrosolubles du groupe B et la vitamine C</b> forment des coenzymes</li> </ul>  |

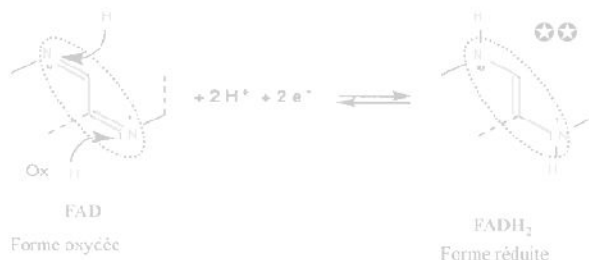
| CO-ENZYME D'OXYDORÉDUCTION<br>NICOTINAMIDE ADÉNINE DINUCLÉOTIDE NAD <sup>+</sup> /NADH,H <sup>+</sup><br>NICOTINAMIDE ADÉNINE DINUCLÉOTIDE PHOSPHATE NADP <sup>+</sup> /NADPH,H <sup>+</sup>        |   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Dérivés de la vitamine B3</li> <li>2 nucléotides : adénine-ribose-phosphate et nicotinamide-ribose-phosphate reliés par une liaison pyrophosphate</li> </ul> |  <p>Nicotinamide - Ribose - phosphate Adénine - Ribose - Phosphate</p> <p>Si R = H : NAD<sup>+</sup><br/>Si R = PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> : NADP<sup>+</sup></p>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>En position 4 du noyau pyrimidique :</li> </ul>  |  <p>Forme oxydée      Forme réduite</p>   |
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Enzymes : <b>Oxydo-réductases</b> ou <b>déshydrogénases</b></li> <li>Réduction / oxydation par 1 H<sup>+</sup> et 2 électrons = 1 ion hydrure H<sup>-</sup></li> <li>Transporteur d'hydrogène</li> </ul>   |
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Le NAD<sup>+</sup> est impliqué dans de nombreuses réactions du métabolisme glucidique, du métabolisme des acides gras et du cycle de Krebs</li> </ul>   |
|   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Forme oxydée NAD<sup>+</sup> ou NADP<sup>+</sup> absorbe à 260 nm</li> <li>Forme réduite NADH ou NADPH absorbe à 260 et 340 nm                             <ul style="list-style-type: none"> <li>Cela permet le dosage de certaines réactions chimiques qui utilisent le NAD<sup>+</sup> ou le NADP<sup>+</sup> comme coenzyme par spectrophotométrie</li> </ul> </li> <li>Exemple : la réaction catalysée par la lactico-déshydrogénase (LDH) : acide pyruvique + NADH, H<sup>+</sup> ↔ acide lactique + NAD<sup>+</sup> peut être suivie par la mesure de l'absorbance (DO) à 340nm, reflet inverse de la concentration en acide pyruvique</li> </ul> |

CO-ENZYME D'OXYDORÉDUCTION  
LES FLAVINES NUCLÉOTIDES

- Dérivés de la vitamine B2 ou riboflavine, présente dans les grains de céréales, les poissons et synthétisée par la flore intestinale
- Flavine Mono Nucléotide :  
FMN / FMNH<sub>2</sub>
- Flavine Adénine Dinucléotide :  
FAD / FADH<sub>2</sub>



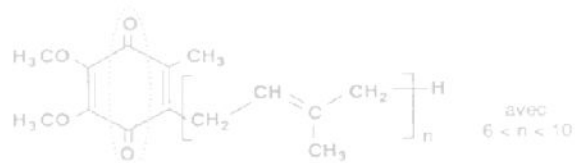
- Système de double liaison :



- Enzymes : Oxydo-réductases ☼☼ ou déshydrogénases
- Accepteurs de 2 protons H<sup>+</sup> et de 2 électrons ☼☼
- Formation de doubles liaisons sur le substrat

CO-ENZYME D'OXYDORÉDUCTION  
L'UBIQUINONE OU COENZYME Q

- Noyau quinone substitué à une chaîne isoprénoïque
- Chez l'Homme, cette chaîne possède 10 répétitions isoprénoïques : coenzyme Q10



- Accepteurs de 2 protons H<sup>+</sup> et de 2 électrons

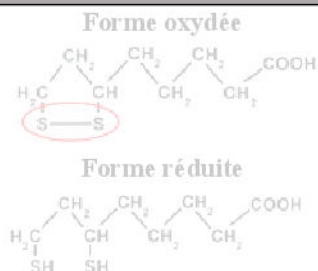
- Coenzyme liposoluble : présent dans la membrane interne de la mitochondrie, libre et mobile
- Sert de transporteur d'électrons dans la chaîne respiratoire

| CO-ENZYME D'OXYDORÉDUCTION<br>ACIDE L-ASCORBIQUE OU VITAMINE C |   |
|--|---|
|  | <p>       Ac L déhydro ascorbique<br/>Forme oxydée     </p> <p>       Ac L ascorbique<br/>Forme réduite     </p> <p>       Ac L Semi-déhydroascorbique     </p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ La fonction ène-diol entre C2 et C3 de l'acide ascorbique s'oxyde en fonctions cétones, avec un intermédiaire, l'acide semi-déhydroascorbique</li> </ul> |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Accepteurs de 2 protons <math>H^+</math> et de 2 électrons</li> <li>▪ Réactions d'oxydo-réduction</li> <li>▪ Enzyme : Hydroxylases</li> </ul>  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Rôle essentiel dans la production de collagène : hydroxylation de PRO en OH-PRO et LYS en OH-LYS</li> <li>▪ Rôle important dans la formation de noradrénaline par hydroxylation de dopamine</li> <li>▪ Chez les mammifères non primates : synthèse à partir de l'acide glucuronique</li> </ul>                           |

| CO-ENZYME D'OXYDORÉDUCTION<br>GLUTATHION |   |
|--|---|
|  | <p>       Acide glutamique      Cystéine      Glycine     </p> <p> <math>2 \text{ G-SH} \rightleftharpoons \text{G-S-S-G} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-</math> </p>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Accepteurs de 2 protons <math>H^+</math> et de 2 électrons grâce à sa fonction thiol (-SH) ⚡</li> </ul>  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tripeptide possédant un rôle important :           <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Dans la protection des globules rouges contre l'oxydation</li> <li>○ Dans les processus de détoxification</li> </ul> </li> </ul> |

CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS ACYLS  
ACIDE LIPOÏQUE

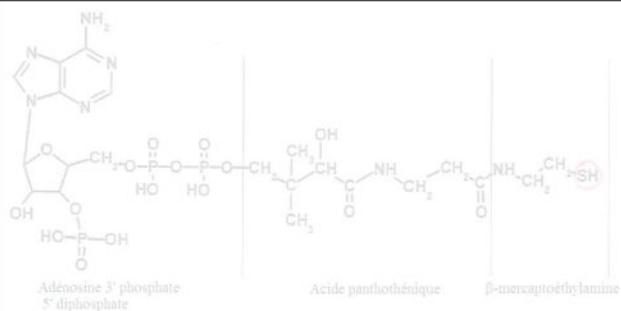
- 8 atomes de carbone
- Site actif : 2 S formant un pont disulfure : rupture réversible
- Lié à l'enzyme par une liaison amide entre le COOH et la fonction amine d'une LYS



- 2 rôles de coenzymes :
  - Transfert de groupements acyls par l'intermédiaire des fonctions thiols : forme acétylée de l'acide lipoïque par exemple
  - Et oxydo-réduction  $\rightleftharpoons$  par transfert de 2H
- Impliqué dans la réaction de décarboxylation oxydative des acides  $\alpha$ -cétoniques notamment de l'acide pyruvique par la pyruvate déshydrogénase

CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS ACYLS  
COENZYME A OU COA-SH

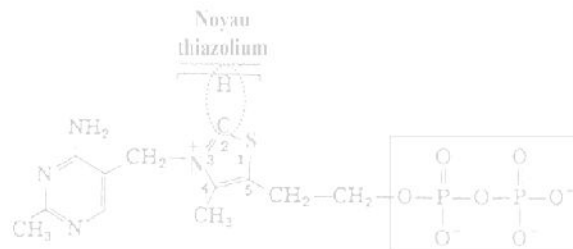
- Dérivé de l'acide pantothénique associé à l'adénosine 3-phosphate du mercaptoéthanolamine



- Transfert de groupements acyls  $\rightleftharpoons$
- La fonction thiol  $-SH$  détient la réactivité de la molécule : elle se condense avec un carboxyle pour former une liaison thioester riche en énergie, ou à haut pouvoir d'hydrolyse
- Si le groupement acyl est un acétyl  $\rightarrow$  acétyl-CoA
- Transporteur universel de groupements acyls
- Très grande importance dans le métabolisme de l'acétyl-CoA : carrefour des voies métaboliques

CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS ACYLS  
**THIAMINE DIPHOSPHATE TDP OU THIAMINE PYROPHOSPHATE**

- Dérivé la vitamine B1 ou thiamine retrouvée dans les céréales, les abats et la flore intestinale
- Noyau thiazolium relié à un cycle pyrimidine par un pont méthylène et fixation de 2 phosphates
- Site actif : C2 du **thiazole substitué**
- Apparition d'un centre nucléophile lors de la perte du H<sup>+</sup> par le C2

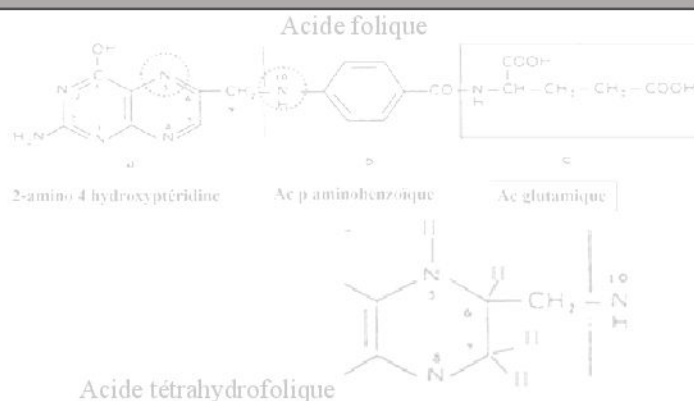


- **Transfert de groupements acyls**
- Enzymes :
  - **Décarboxylases d'acides α-cétoniques** comme la pyruvate décarboxylase
  - **Transcétolases** : transfert de chainons dicarbonés ⚡⚡

- Les transcétolases sont présentes dans la voie des pentoses phosphates

CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS MONOCARBONÉS  
**ACIDE FOLIQUE**

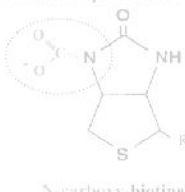
- Acide dihydrofolique DHF par réduction de 2H
- **Acide tétrahydrofolique THF** par réduction de 4H : **forme active**
- Site actif : **atomes N5 et N10**



- **Transfert mobile de groupements monocarbonés ⚡ :**
  - **Méthyl ⚡⚡**
  - OH-méthyl
  - Formyl
  - Formimino
  - Méthylène
- Enzymes :
  - **Synthèse de la méthionine** par la méthionine synthase à partir de l'homocystéine et du THF qui apporte le groupement méthyl, associé à vitamine B12

- Rôle important dans le **métabolisme des acides aminés**
- Rôle important dans la **synthèse des nucléotides** :
  - La dihydrofolate réductase qui réduit le DHF en THF est très active dans les cellules cancéreuses
  - Certaines molécules de chimiothérapie anticancéreuse bloquent le métabolisme de l'acide folique : c'est le cas du méthotrexate, qui bloque la dihydrofolate réductase et la mitose des cellules cancéreuses
- En cas de carence : anémie mégaloblastique
- Toutes les femmes enceintes sont aujourd'hui supplémentées en acide folique car il y a diminution importante du risque d'un défaut de fermeture du tube neural qui peut entraîner une spina bifida

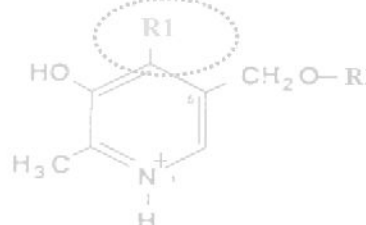
CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS : CARBOXYLASES  
**BIOTINE**

|  |   |   |
|--|---|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Coenzyme lié à la chaîne latérale d'une lysine de l'apoenzyme par la fonction COOH avec une <b>liaison covalente</b> ⚡</li> <li>Active sous forme de N-carboxybiotine</li> </ul> |  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Transport de CO<sub>2</sub></b> ⚡</li> <li>Enzymes : <b>Carboxylases</b> ⚡⚡</li> </ul>  |   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Coenzyme de la pyruvate carboxylase ⚡ <ul style="list-style-type: none"> <li>Permet la réalisation d'une réaction cruciale de la <b>néoglucogenèse</b></li> </ul> </li> </ul>    |   |

CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS ENTRE DEUX ATOMES DE CARBONE VOISINS  
**VITAMINE B12**

|  |   |
|--|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Structure complexe à noyau tétrapyrrolique et un <b>atome de cobalt</b> ⚡ <b>Co<sup>+</sup></b> central</li> <li>Le Co fait 6 liaisons <ul style="list-style-type: none"> <li>4 aux N du noyau tétrapyrrolique</li> <li>1 à un nucléotide</li> <li>En fonction de la 6<sup>ème</sup> liaison : <ul style="list-style-type: none"> <li>hydroxycobalamine si hydroxyle</li> <li>cyanocobalamine si cyanure CN</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul> |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Synthèse par des bactéries intestinales</li> <li>Retrouvée en abondance dans la viande, les œufs, les abats</li> <li>Son absorption nécessite le facteur intrinsèque intestinal sécrété par l'estomac</li> <li>Dans l'intestin, la vitamine B12 est cédée à la transcobalamine qui assure sa circulation sanguine et sa distribution dans l'organisme</li> </ul>   |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Réactions d'isomérisation</b> impliquant un résidu carboxyle <ul style="list-style-type: none"> <li>Transfert de groupements entre 2 atomes voisins</li> </ul> </li> </ul>  |

CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS : TRANSAMINASES  
**PHOSPHATE DE PYRIDOXAL** ⚡

|  |   |   |
|--|---|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Dérivé de la vitamine B6 ⚡</li> <li>Si R1 = CH<sub>2</sub>OH = pyridoxine</li> <li>Si R1 = CHO = <b>pyridoxal</b></li> <li>Si R2 = PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> : <b>phosphate de pyridoxal, coenzyme actif</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Groupe <b>aldéhyde -CHO</b> ⚡ important dans le mécanisme de transamination</li> </ul> </li> <li>Si R1 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> = pyridoxamine</li> </ul> |  |
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Transamination</b> ⚡⚡⚡ par les <b>transaminases</b> ⚡</li> <li><b>α- décarboxylations</b> : formation d'amines biogènes</li> </ul>  |   |