

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

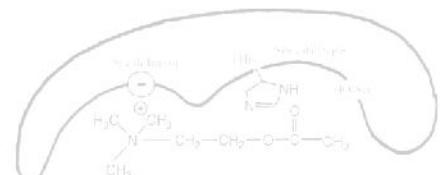
	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Protéine douée d'activité catalytique spécifique</li> <li>■ Permet aux réactions biochimiques de se produire à vitesse élevée et de façon très spécifique</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Enzymes <b>homogènes</b> entièrement protéiques           <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 covalente à l'enzyme appelé <b>groupement prosthétique</b> ↗                   <ul style="list-style-type: none"> <li>Ex : FAD, biotine ou phosphate de pyridoxal</li> </ul> </li> <li>- Lié de façon non covalente 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 d'<b>ASAT</b> et <b>ALAT</b> : hépatite virale</li> <li>○ Présence d'<b>amylase</b> et de <b>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 <b>troponine cardiaque I</b> : 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</b> et sa <b>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> : peu d'interactions avec l'eau 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 SITE ACTIF DES ENZYMES
	Modèle de Fischer	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Utilisé pendant longtemps</li> <li>▪ Modèle rigide : Modèle clef-serrure</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>▪ Modèle de l'ajustement induit, plus proche de la réalité</li> <li>▪ Interactions E-S par liaisons faibles majoritairement (liaisons H, Van der Waals) et rarement par liaisons covalentes, transitoires lors de la catalyse</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 choisi</b></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>▪ <b>Confirmation possible en présence d'un substrat spécifique de l'enzyme qui permet de protéger le site actif de son inactivation</b></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 mutagénèse 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 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 état de transition <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, l'<b>énergie libre d'activation</b> à fournir est diminuée  , ce qui augmente la <b>vitesse des réactions</b></li> <li>▪ Cet effet est dû à la déformation du substrat par l'enzyme par des interactions faibles</li> <li>▪ L'<b>enzyme est retrouvée intacte</b> à la fin de la réaction </li> </ul>

MODE D'ACTION DES ENZYMES  
SPÉCIFICITÉ DE L'ACTION ENZYMATIQUE

	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Spécificité de réaction<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 substrat<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 trypsine coupe la liaison peptidique, côté carboxylique, à droite, d'une LYS ou ARG●●●</li><li>▪ La chymotrypsine coupe la liaison peptidique à droite des acides aminés aromatiques : PHE, TYR, TRP mais également après MET, LEU, ASN, GLN</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</b> les 2 isomères optiques 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>▪ Transfert d'électrons</li><li>▪ Nécessité d'avoir obligatoirement <b>2 substrats</b> : 1 oxydé et 1 réduit</li><li>▪ Exemple : lacticodéshydrogénase LDH</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'eau</li><li>▪ Réactions déplacées dans le sens de l'hydrolyse</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</b>, qui nécessitent un couplage avec une hydrolyse fournissant l'énergie nécessaire. Exemple : ATP → ADP + Pi</li><li>▪ Exemple : glutamine synthétase</li></ul>

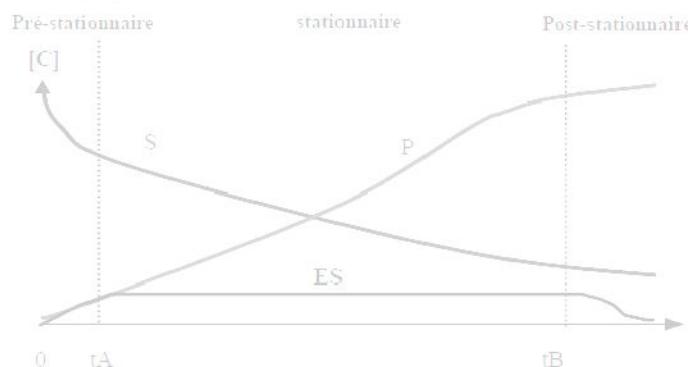
## CINÉTIQUE ENZYMATIQUE

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



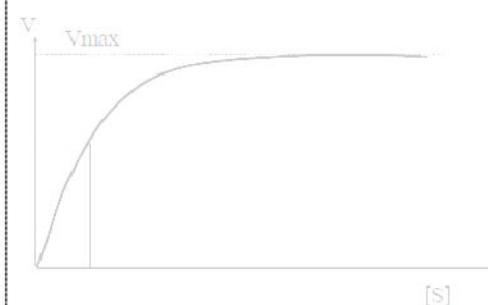
- $k_1$  et  $k_2$  sont les constantes de vitesse de formation du complexe enzyme-substrat ES
- $k_{-1}$  et  $k_{-2}$  sont les constantes de vitesse de dissociation du complexe ES
- L'enzyme est libérée à la fin de la réaction car elle lie le substrat par des liaisons réversibles

- 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

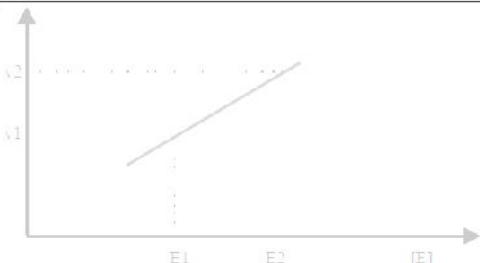


## CINÉTIQUE ENZYMATIQUE EFFETS DE MODIFICATIONS EXPÉRIMENTALES

- 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 =  $V_{max}$
- A la constante  $V_{max}$ , 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

	$V = \frac{V_{max} [S]}{[S] + K_M}$	
	<ul style="list-style-type: none"> <li><math>K_M</math> représente la concentration en substrat pour laquelle <math>V = V_{max}/2</math></li> <li>L'inverse du <math>K_M</math> exprime l'affinité de l'enzyme pour son substrat</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><math>K_M</math> est la <b>constante de Michaelis</b> :</li> </ul> $K_M = \frac{k_1 + k_2}{k_1}$
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Courbe hyperbolique</li> <li>Peu pratique et peu précise</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>On obtient une droite</li> <li>Intersection avec l'axe des ordonnées</li> </ul> $= \frac{1}{V_{max}}$ <ul style="list-style-type: none"> <li>Intersection avec l'axe des abscisses</li> </ul> $= -\frac{1}{K_M}$ <ul style="list-style-type: none"> <li>Pente de la droite = <math>\frac{K_M}{V_{max}}</math></li> </ul>	<p>Equation de la droite : <math>\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}</math></p>

## UNITÉS DE MESURE DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

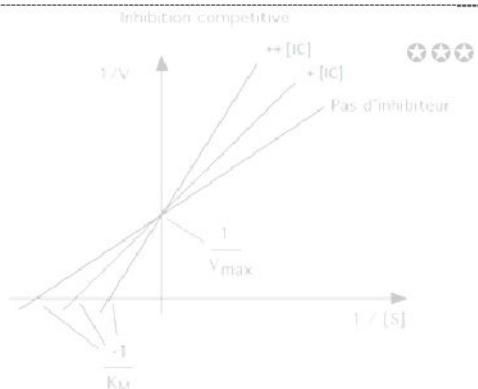
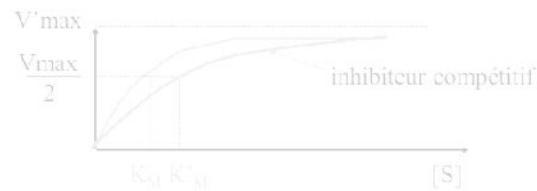
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Exprimée en <math>\mu\text{mol de S ou P par min à } 25^\circ\text{C}</math></li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Exprimée en UI par mg de protéine</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Exprimée en katal (kat) = mol de S par seconde</li> <li>Plus facile à utiliser : nanokat (<math>10^{-9}</math> kat).</li> <li>1 UI = 16,6 nkat</li> </ul>

EFFECTEURS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE 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 Courbe d'activation température optimale 40°C Effet de la température t°C</p>
	Phase descendante	<ul style="list-style-type: none"> <li>Diminution de l'activité due à la dénaturation de l'enzyme : la chaleur lui fait perdre sa fonction</li> </ul>	
	température optimale	<ul style="list-style-type: none"> <li>Définie par la température à laquelle l'activité est maximale</li> <li>Différente pour chaque enzyme           <ul style="list-style-type: none"> <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> </li> </ul>	
	pH optimal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Different en fonction des enzymes           <ul style="list-style-type: none"> <li>Certaines enzymes sont actives à un pH très acide. Exemple : pepsine de l'estomac</li> <li>D'autres à pH alcalin. Exemple : phosphatase alcaline</li> <li>La majorité à pH neutre. Exemple : trypsine</li> </ul> </li> </ul>	<p>courbe en cloche pH optimum 6 14 pH</p>
	Effet sur les enzymes et les substrats	<ul style="list-style-type: none"> <li>pH extrêmes peuvent dénaturer les enzymes, en rompant les liaisons de la protéine</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>Activateurs           <ul style="list-style-type: none"> <li>Exemple : K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup></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>	

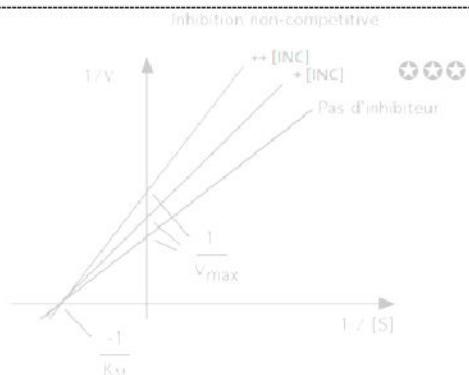
EFFECTEURS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE LES INHIBITEURS	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se combinent à l'enzyme</li> <li>S'opposent au déroulement de la réaction</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contrôle des systèmes biologiques</li> <li>Médicament</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: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

## EFFECTEURS DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE INHIBITEURS RÉVERSIBLES

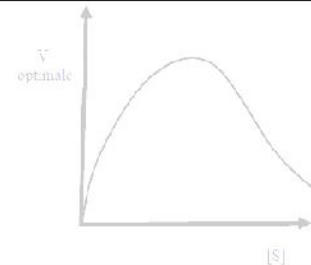
- Analogue structural  du substrat
- Compétition entre l'inhibiteur et le substrat pour la fixation au site actif 
- Diminution puis disparition de son effet lorsque les concentrations en substrat sont élevées 
- La  $V_{max}$  de l'enzyme n'est pas modifiée 
- Le  $K_m$  augmente 
- L'affinité apparente 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 concerne 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 analogie structurale avec le substrat, et un groupe fonctionnel supplémentaire           <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Formation d'une liaison covalente irréversible avec le site actif</li> </ul> </li> <li>■ Exemple : La pénicilline est un antibiotique qui tue les bactéries en inactivant la transpeptidase, 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 sigmoïde</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>re</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 conformation R Relâchée à forte affinité</li> <li>○ Une conformation T Tendue à faible affinité</li> </ul> </li> <li>■ Plusieurs modèles de passage de T à R :           <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Selon un modèle concerté : Tout T → tout R, modèle de Monod, symétrique</li> <li>○ Selon un modèle séquentiel : Changement T → R de chaque sous-unité au fur et à mesure, modèle de Koshland, 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 différent de S : il se fixe à un endroit différent.</li> <li>■ Il peut être <b>positif</b> : activateur allostérique :           <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Favorise la forme R</li> <li>○ Décalage de la courbe vers la gauche ↘ : courbe peut devenir hyperbolique</li> </ul> </li> <li>■ Il peut être <b>négatif</b> : inhibiteur allostérique           <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Favorise la forme T</li> <li>○ Décalage de la courbe vers la droite : renforce l'effet sigmoïde</li> </ul> </li> </ul>	<p style="text-align: center;">     V ↑      ↓ [S] ↑      Activateur      Inhibiteur      SANS EFFETEUR   </p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;"> <p>T I Inhibiteurs</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>R A Activateurs</p> </div> </div>

## MODÈLE ALLOSTÉRIQUE

### MODULATEURS DE L'ACTIVITÉ DES ENZYMES ALLOSTÉRIQUES

- |  |   |
|--|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Les sulfamides sont des bactériostatiques analogues de l'acide p-aminobenzoïque, précurseur de l'acide folique, indispensable aux bactéries</li> <li>■ 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</li> <li>■ Un inhibiteur de la xanthine oxydase permettant la formation d'acide urique est utilisé dans le traitement de la goutte ou hyperuricémie</li> </ul> |
|--|---|

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

### RÉGULATIONS AU NIVEAU DU SITE CATALYTIQUE

- |  |  |  |
|--|--|--|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Lorsque <math>K_M \gg [S]</math> les variations de concentration en substrat modifient la vitesse des réactions : <b>régulation possible</b>.</li> <li>■ Lorsque <math>K_M \ll [S]</math> : quelle que soit la variation de concentration en S, la vitesse n'est pas modifiée et sera égale à <math>V_{max}</math> : <b>pas de régulation de la vitesse</b>.</li> </ul> |  |
|--|--|--|

- |  |   |
|--|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Les voies métaboliques sont généralement contrôlées par des enzymes allostériques</li> <li>■ Ces enzymes sont souvent les premières enzymes des voies métaboliques : réaction d'engagement dans la chaîne métabolique</li> <li>■ Le produit final de cette voie va agir comme rétrocontrôle négatif sur cette enzyme allostérique = <b>rétroinhibition ou feed-back</b></li> </ul> |
|--|---|

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

### MODIFICATIONS STRUCTURALES DE L'ENZYME

	Phosphorylation / déphosphorylation	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Par des kinases en présence d'ATP sur les OH de SER ou THR</li> <li>■ Exemples de la glycogène synthase et pyruvate déshydrogénase plus actives en étant déphosphorylées et de la glycogène phosphorylase plus active en étant phosphorylée</li> </ul>
	Adénylation	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Transfert d'un adénosyl-phosphate</li> </ul>
	Méthylation / déméthylation	
	Protéines régulatrices	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Activation ou inhibition des protéines qu'elles contrôlent par fixation</li> <li>■ Exemple : calmoduline dont la conformation est modifiée lors de la fixation du calcium. Cela permet au complexe Ca-calmoduline d'activer des enzymes</li> </ul>
	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> <p><b>Exemple des enzymes de la digestion</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Le trypsinogène est <b>synthétisé inactif</b> dans les cellules du pancréas pour éviter l'autodigestion</li> <li>▪ Le trypsinogène est activé par une entéropeptidase dans l'intestin</li> <li>▪ La trypsine va à son tour cliver et activer d'autres enzymes</li> </ul> <pre> graph TD     EP[Entéropeptidase] --&gt; T[Trypsinogène]     T --&gt; T2[Trypsine]     T2 --&gt; CT[Chymotrypsinogène]     T2 --&gt; PE[Proélastase]     T2 --&gt; PCP[Procarboxypeptidase]     CT --&gt; CT2[Chymotrypsine]     PE --&gt; E[Elastase]     PCP --&gt; CP[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 différer par l'<b>affinité vis-à-vis du substrat</b></li> <li>▪ On peut les distinguer par un comportement électrophorétique différent : taille souvent différente</li> </ul> <p><b>Réaction réversible</b> : Ac pyruvique + NADH, H<sup>+</sup> → Ac Lactique + NAD<sup>+</sup></p> <ul style="list-style-type: none"> <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 M<sub>4</sub> et M<sub>3</sub>H<sub>1</sub></li> <li>◦ Dans le cœur, on retrouve surtout M<sub>1</sub>H<sub>3</sub> et H<sub>4</sub></li> </ul> </li> <li>▪ Ces différentes isoenzymes peuvent être étudiées par électrophorèse : augmentation de H<sub>4</sub> lors d'infarctus.</li> </ul>

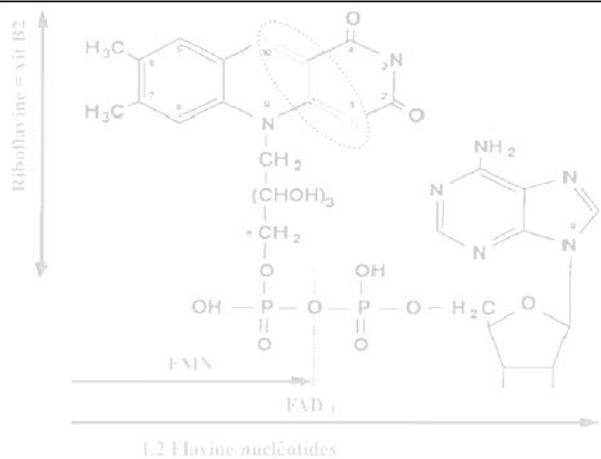
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Les coenzymes sont des <b>molécules organiques de nature non protéique</b></li> <li>▪ Ils possèdent un faible poids moléculaire</li> <li>▪ Ils sont <b>thermostables</b> la plupart du temps : ce qui les distingue des enzymes</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: 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'OXIDORÉDUCTION

	<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> 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>NAD<sup>+</sup>                          NADH</p> <p>Forme oxydée                      Forme réduite</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Enzymes : Oxydo-réductases ou déshydrogénases</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 catabolisme 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>	

- Dérivés de la vitamine B2 ou riboflavine, présente dans les graines 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 

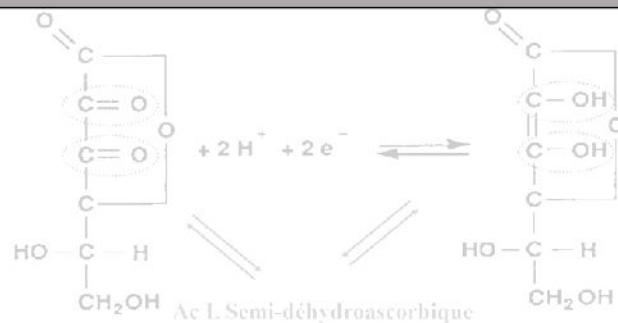
- #### ■ Formation de doubles liaisons sur le substrat

- 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**

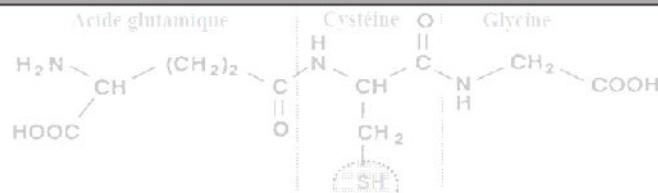
- Coenzyme liposoluble : présent dans la membrane interne de la mitochondrie, libre et mobile
  - Sert de transporteur d'électrons dans la chaîne respiratoire



- La fonction **ène-diol** entre C2 et C3 de l'acide ascorbique s'oxyde en fonctions cétones, avec un intermédiaire, l'acide semi-déhydroascorbutique.

- Accepteurs de 2 protons  $H^+$  et de 2 électrons
  - Réactions d'oxydo-réduction
  - Enzyme : Hydroxylases

- Rôle essentiel dans la production de collagène : hydroxylation de PRO en OH-PRO et LYS en OH-LYS
  - Rôle important dans la formation de noradrénaline par hydroxylation de dopamine
  - **Chez les mammifères non primates : synthèse à partir de l'acide glucuronique**

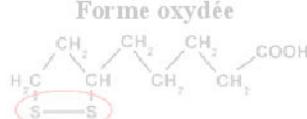
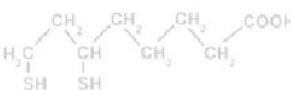


- Accepteurs de 2 protons H<sup>+</sup> et de 2 électrons grâce à sa fonction thiol (-SH) 

- Tripeptide possédant un rôle important :
    - Dans la protection des globules rouges contre l'oxydation
    - Dans les processus de détoxicification

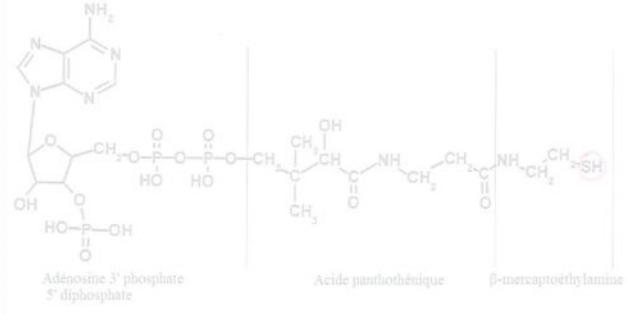
## CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS ACYLS

### ACIDE LIPOIQUE

	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 8 atomes de carbone</li> <li>■ Site actif : 2 S formant un pont disulfure : rupture réversible</li> <li>■ Lié à l'enzyme par une liaison amide entre le COOH et la fonction amine d'une LYS</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>Forme oxydée</b></p>  <p style="text-align: center;"><b>Forme réduite</b></p> 
	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2 rôles de coenzymes : <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Transfert de groupements acyls par l'intermédiaire des fonctions thiols : forme acétylée de l'acide lipoïque par exemple</li> <li>○ Et oxydo-réduction <math>\leftrightarrow</math> par transfert de 2H</li> </ul> </li> <li>■ Impliqué dans la réaction de décarboxylation oxydative des acides <math>\alpha</math>-cétoniques notamment de l'acide pyruvique par la pyruvate déshydrogénase</li> </ul>	

## CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS ACYLS

### COENZYME A OU COA-SH

	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Dérivé de l'acide pantothénique associé à l'adénosine 3'-phosphate du mercaptoéthanamine</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">Adénosine 3'-phosphate 5'-diphosphate      Acide pantothénique      <math>\beta</math>-mercaptoéthylamine</p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Transfert de groupements acyls <math>\leftrightarrow</math></li> <li>■ 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</li> <li>■ Si le groupement acyl est un acétyl <math>\rightarrow</math> acétyl-CoA</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Transporteur universel de groupements acyls</li> <li>■ Très grande importance dans le métabolisme de l'acétyl-CoA : carrefour des voies métaboliques</li> </ul>	

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

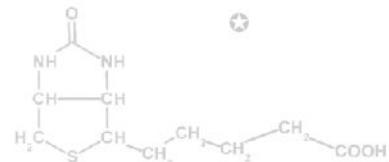
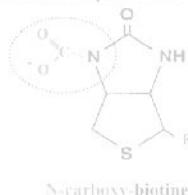
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dérivé la vitamine B1 ou thiamine retrouvée dans les céréales, les abats et la flore intestinale</li> <li>Noyau thiazolium relié à un cycle pyrimidine par un pont méthylène et fixation de 2 phosphates</li> <li>Site actif : C2 du thiazole substitué</li> <li>Apparition d'un centre nucléophile lors de la perte du H<sup>+</sup> par le C2</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Transfert de groupements acyls</li> <li>Enzymes : <ul style="list-style-type: none"> <li>Décarboxylases d'acides <math>\alpha</math>-cétoniques comme la pyruvate décarboxylase</li> <li>Transcétolases : transfert de chainons dicarbonés <math>\bullet\bullet</math></li> </ul> </li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Les transcétolases sont présentes dans la voie des pentoses phosphates</li> </ul>	

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

	<ul style="list-style-type: none"> <li>Acide dihydrofolique DHF par réduction de 2H</li> <li>Acide tétrahydrofolique THF par réduction de 4H : forme active</li> <li>Site actif : atomes N5 et N10</li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Transfert mobile de groupements monocarbonés <math>\bullet</math> : <ul style="list-style-type: none"> <li>Méthyl <math>\bullet\bullet</math></li> <li>OH-méthyl</li> <li>Formyl</li> <li>Formimino</li> <li>Méthylène</li> </ul> </li> <li>Enzymes : <ul style="list-style-type: none"> <li>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</li> </ul> </li> </ul>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Rôle important dans le métabolisme des acides aminés</li> <li>Rôle important dans la synthèse des nucléotides : <ul style="list-style-type: none"> <li>La dihydrofolate réductase qui réduit le DHF en THF est très active dans les cellules cancéreuses</li> <li>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</li> </ul> </li> <li>En cas de carence : anémie mégaloblastique</li> <li>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</li> </ul>	

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

- Coenzyme lié à la chaîne latérale d'une lysine de l'apoenzyme par la fonction COOH avec une **liaison covalente**
- Active sous forme de N-carboxybiotine



- Transport de  $\text{CO}_2$
- Enzymes : **Carboxylases**

- Coenzyme de la pyruvate carboxylase
  - Permet la réalisation d'une réaction cruciale de la néoglucogenèse

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

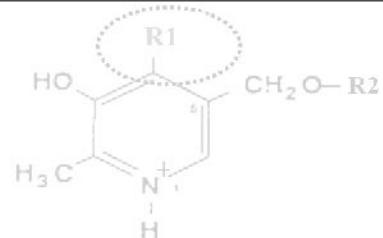
- Structure complexe à noyau tétrapyrrolique et un **atome de cobalt**  $\text{Co}^+$  central
- Le Co fait 6 liaisons
  - 4 aux N du noyau tétrapyrrolique
  - 1 à un nucléotide
  - En fonction de la 6<sup>ème</sup> liaison :
    - hydroxycobalamine si hydroxyle
    - cyanocobalamine si cyanure CN

- Synthèse par des bactéries intestinales
- Retrouvée en abondance dans la viande, les œufs, les abats
- Son absorption nécessite le facteur intrinsèque intestinal sécrété par l'estomac
- Dans l'intestin, la vitamine B12 est cédée à la transcobalaminne qui assure sa circulation sanguine et sa distribution dans l'organisme

- **Réactions d'isomérisation** impliquant un résidu carboxyle
  - Transfert de groupements entre 2 atomes voisins

**CO-ENZYME DE TRANSFERT DE GROUPEMENTS : TRANSAMINASES  
PHOSPHATE DE PYRIDOXAL  $\ddot{\oplus}$** 

- Dérivé de la vitamine B6
- Si  $\text{R}1 = \text{CH}_2\text{OH}$  = pyridoxine
- Si  $\text{R}1 = \text{CHO}$  = pyridoxal
- Si  $\text{R}2 = \text{PO}_3\text{H}_2$  : phosphate de pyridoxal, coenzyme actif
  - Groupement aldéhyde  $-\text{CHO}\ddot{\oplus}$  important dans le mécanisme de transamination
- Si  $\text{R}1 = \text{CH}_2\text{-NH}_2$  = pyridoxamine



- **Transamination**  $\ddot{\oplus}\ddot{\oplus}\ddot{\oplus}$  par les transaminases
- $\alpha$ -décarboxylations : formation d'amines biogéniques