

ENZYMOLOGIE



I. DEFINITION DE L'ENZYMOLOGIE

Définition enzymologie : étude des enzymes

La gestion de l'énergie et des réactions qui se déroulent au sein des tissus comporte une série très importante de **réactions chimiques** qui doivent :

- être **ordonnées**
- être **spécifiques** = à partir d'une molécule de départ, on doit **toujours** obtenir le **même produit** final, pour éviter la formation de produits aléatoires ou secondaires
- elles répondent à un certain **besoin physiologique**
- **vitesse** de réaction contrôlée et **adaptée**

Ce rôle de **gestion et de maintien** des propriétés des réactions chimiques et des transformations métaboliques est la fonction principale des enzymes.

II. DEFINITION DES ENZYMES

Définition des Enzymes : ce sont des **protéines** majoritairement. Elles sont déterminées **génétiquement** : codées par le code génétique. On peut dire qu'elles sont **ubiquistes** = présentes dans toutes les cellules . Leur nom a été déterminé par **Khüne**

Exception : les **ribozymes**, qui sont des enzymes mais qui sont des ARNs

A) NOMENCLATURE DES ENZYMES

1) La courante

Elle consiste à désigner une enzyme par le **type de réaction catalysée** auquel on ajoute le suffixe **"ASE"**

INCONVENIENT : peut porter à confusion entre certaines enzymes qui ont des noms semblables.

2)L'enzymatique

C'est une classification de l'union internationale de biochimie en 1961 basée sur le **type de réaction** catalysée.

On a **6 groupes** qui identifient les enzymes par 4 chiffres précédés par EC.

B) ROLE DES ENZYMES

Sur la base de l'**étude bioénergétique** d'une réaction, on peut savoir si celle-ci se déroulera spontanément ou non.

Cependant, même si une réaction se déroule spontanément, elle peut ne pas se dérouler dans des **temps compatibles et adaptés** aux besoins physiologiques. Les enzymes ont donc pour rôle de participer à des réactions chimiques, en agissant comme **catalyseurs biologiques**.

Définition catalyseur : ont pour rôle d'**accélérer** une réaction. Ils agissent sur une **réaction spécifique** du métabolisme.

Quelles sont les règles du fonctionnement des enzymes ?

- ✓ agissent à des **concentrations très faibles** par rapport aux substrats
- ✓ ils augmentent la vitesse de réaction possible d'une **réaction chimique POSSIBLE** d'un point de vue thermodynamique : la réaction doit pouvoir se faire spontanément et l'enzyme permet de l'accélérer.
- ✓ ne **modifie pas le résultat** de la réaction chimique
- ✓ la **structure de l'enzyme reste inchangée** à la fin de la réaction : elles peuvent se modifier au cours de la réaction mais à la fin, elles retrouvent toujours leur configuration originale : on obtient ainsi toujours le même produit de réaction.
- ✓ Une enzyme ne **provoque jamais** de réaction chimique
- ✓ Les enzymes sont **spécifiques** d'une réaction donnée.
- ✓ L'enzyme agit seulement sur la vitesse de réaction.

C) LEUR IMPORTANCE EN MEDECINE

1) Dans les pathologies

<i>Déficiences de l'enzyme</i>	<i>Nom de la maladie</i>	<i>Conséquences</i>
Glucose 6P déshydrogénase	anémie hémolytique	
Phosphorylase	maladie de McArdle	le glycogène stocké dans le muscle ne peut pas être converti en glucose lors d'un effort.
Ornithine transcarbamylase (impliquée dans cycle urée)		augmentation d'ammoniac dans le sang (hyperammoniémie)

BILAN : De nombreuses pathologies sont associées à un dysfonctionnement ou des suractivités de certaines enzymes.

2) Intérêt diagnostique

◆ Exemple de la CPK (créatine phospho-kinase):

Définition CPK : présente dans le **muscle cardiaque**. Lors d'un **infarctus du myocarde**, elle est relarguée dans le sang, donc il y a une augmentation du pic de cette enzyme dans le sang

→ Comme ce pic est présent dans les heures suivant un infarctus on peut déterminer si un patient en a eu un.

→ Maintenant, on privilégie la mesure d'autres enzymes, comme **la troponine 1**, car la réponse post-infarctus est **plus rapide** et que la sensibilité est **plus importante**

◆ Exemple du dosage de certains métaboliques : la Glycémie

Définition mesure de la glycémie: on mesure le **taux de glucose circulant** dans le sang. Le principe est basé sur un ensemble de réactions enzymatiques.

→ Méthode **indirecte** de mesure :

(1) le glucose qui est dans le sang est mis en contact avec un mélange réactionnel contenant du **glucose oxydase**.

(2) Au cours de la réaction entre glucose et glucose oxydase, de l'oxygène est libéré et réagit avec une 2^e enzyme : **peroxydase**

(3) il y a à nouveau libération de l'O₂ qui va réagir avec un substrat. Celui-ci sera oxydé et changera de couleur. On va donc mesurer son abondance par spectrométrie : l'intensité de l'absorbance sera proportionnelle à la glycémie.

3)Intérêt Pharmacologique

<i>Problème</i>	<i>Solution apportée</i>
Déficit d'une enzyme	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Restaurer la fonction tissulaire par une molécule pharmacologique ayant la même activité que l'enzyme manquante. ➤ ➤ réaliser une enzymothérapie de substitution ➤ ➤ utiliser des enzymes purifiées.
Suractivité d'une enzyme	<ul style="list-style-type: none"> ➤ inhiber l'activité d'une enzyme impliquée dans la formation de molécules délétères.

BILAN : La pharmacologie permet donc d'activer ou inhiber les enzymes.

III. L'ENZYME CATALYSEUR BIOLOGIQUE

A) LES INTERVENANTS DANS UNE REACTION

✓ **Le substrat**

Définition : Molécule qui va être transformée

Caractéristique : un substrat donné donnera toujours le même produit final

✓ **Le produit :**

Définition : Molécule produite

✓ **Le ligand :**

Définition : Corps chimique qui a une liaison spécifique avec une protéine (enzyme, récepteur..)

✓ **Les cofacteurs :**

Définition : composés chimiques qui peuvent être nécessaires à la réaction

✓ **Les coenzymes :**

Définition : ce sont des cofacteurs indispensables à certaines enzymes pour qu'elles exercent leur action catalytique.

Rôles : transport du substrat ou d'une partie de celui-ci

- accepter un produit ou une partie
- maintenir et participer à la structure active de l'enzyme

IL NE FAUT PAS CONFONDRE !

Apoenzyme : enzyme inactive car n'est pas associée à son cofacteur, c'est uniquement la partie protéique

Holoenzyme : enzyme active, car associée à son cofacteur, couple indissociable

B) STRUCTURE ET FONCTION

Les enzymes peuvent être produites et localisées dans différents **compartiments cellulaires**.

→ Majoritairement elles seront dans les compartiments où ont lieu les réactions qu'elles catalysent.

→ Parfois elles seront transportées au sein de la cellule.

→

Pour qu'un substrat puisse se transformer en produit grâce à une enzyme : Il va y avoir la formation d'un **complexe enzyme/substrat** (*cf plus loin*).

1) Le site actif

Définition : correspond à une **crevasse à la périphérie** de l'enzyme formée par les groupements des chaînes latérales des **AA de "contact"**.

Il occupe une faible part du volume total d'une enzyme.

Le site actif constitue un **micro environnement unique** : l'association étroite entre le site actif et un substrat implique que l'eau y est généralement exclue sauf si elle est substrat.

Le site actif est généralement apolaire

Il a **2 fonctions** :

✓ **reconnaître le substrat** = fixation du substrat = site de reconnaissance

✓ **transformer le substrat** = site catalytique

Les enzymes étant des protéines, elles sont composées d'AA. On en a différents types:

Les AA indifférents

<i>ROLE</i>	<i>LOCALISATION</i>	<i>CARACTERISTIQUES</i>
n'interviennent pas dans la réaction enzymatique mais dans la structure de l'enzyme	extrémités C et N ter	nombre variable

Les AA de conformation

<i>ROLE</i>	<i>CARACTERISTIQUES</i>
stabilisent l'enzyme sous sa forme réactionnelle.	n'interviennent pas dans la réaction enzymatique

Les AA auxiliaires

<i>ROLE</i>	<i>LOCALISATION</i>	<i>CATACTERISTIQUE S</i>	<i>FONCTIONNEMENT DE L'ENZYME</i>
assurent la flexibilité du site actif	proches du site actif	pas d'interaction avec le substrat	Essentiels à son fonctionnement

AA de contact

<i>ROLE</i>	<i>LOCALISATION</i>	<i>CARACTERISTIQUE S</i>	<i>NOMS DES AA</i>
interaction avec le substrat (liaison, distance)	pas forcément proches dans la séquence protéique mais peuvent se retrouver côte à côte par le repliement des chaînes	nombre < à 10	Thr, Tyr, Ser, His, Lys, Cys, Glu, Asp, Arg

1) La spécificité

Définition de la spécificité : est liée au degré de **complémentarité** entre la structure de l'enzyme et celle du substrat. On en a 2 types : spécificité de **réaction** et de **substrat**.

a) La spécificité de réaction :

Les sites actifs des enzymes ne peuvent catalyser qu'un seul type de réaction à cause du **fonctionnement** de l'enzyme et de **l'environnement réactionnel**.

Chacune des réactions est catalysée par une **enzyme différente**, spécifique de chacune des réactions, permettant d'obtenir des **produits différents**.

b) Spécificité de substrat

Les enzymes n'interviennent que sur certaines classes de molécules : il doit y avoir la bonne liaison au bon endroit (**relation structure-activité**).

Fréquemment, la spécificité d'une enzyme fait qu'elle n'intervient pas sur une molécule unique, mais sur une **famille de substrats**.

◆Stéréospécificité ou étroite/absolue

1) vis à vis d'un seul isomère

Fumarase : reconnaît la forme TRANS (fumarate) mais pas la forme CIS (maléate)

1) vis à vis d'une forme optiquement active

une **LDH** (lactate déshydrogénase) qui reconnaît la forme L et une autre type la forme D du lactate et du pyruvate.

◆Spécificité de liaison / groupement :

L'enzyme reconnaît la liaison sur laquelle elle doit agir mais aussi son environnement.

Ex : la **chymotrypsin**

◆Spécificité moins stricte / large : Vis à vis d'un groupement fonctionnel

Ex **lipases** : agissent au niveau des tryglycérides pour libérer du glycérol et des AG . Elles catalysent ce type de réaction sans être influencées par la nature des AG.

2) Le complexe enzyme-substrat

Le complexe enzyme-substrat pourra évoluer soit vers le **produit** de réaction ou alors revenir au **substrat et à l'enzyme**. Ces réactions sont régies par des **constantes**.

Définition du complexe ES : c'est l'association des substrats à l'enzyme au niveau du site actif par des interactions de **faible niveau énergétique**. Cette association est très **spécifique** : importance des arrangements précis entre les atomes impliqués pour avoir une forme adaptée du substrat au site actif. Il doit y avoir une **complémentarité parfaite** entre le substrat et l'enzyme pour éviter les réactions secondaires.

Théories sur le complexe enzyme-substrat

la 1ere théorie : Fisher

Pour lui, il y a une **complémentarité parfaite** entre l'enzyme et le substrat : c'est ce qu'il appelle le complexe "**clé-serrure**"
→ une seule clé s'adapte à la serrure.

LIMITES : les données expérimentales ont prouvé que certains substrats avec une forme très similaire au site actif ne subissaient pas de réactions de catalyse.

2e théorie : l'actuelle

L'enzyme n'est pas une structure figée et peut subir des **modifications conformationnelles** pour s'adapter à la forme du substrat.

Donc quand le substrat entre en contact avec l'enzyme, cela entraînera une **modification structurale de l'enzyme** qui va parfaitement s'adapter à la forme du substrat.



IV. ASPECTS

ENERGETIQUES

DE L'ENZYMOLOGIE

Certaines réactions (cf réactions d'oxydation du glucose) passe par plusieurs étapes, plusieurs réactions : chacune possède un ΔG et la somme de ceux-ci donne un aspect énergétique global.

A) L'ENERGIE D'ACTIVATION (E_a)

Définition de l'Energie d'activation : **énergie minimale** requise pour que la réaction ait lieu.

On peut la comparer à une **barrière énergétique** que les molécules doivent franchir pour être transformées. Plus elle sera basse, plus de molécules pourront réagir et donc la vitesse de la réaction sera augmentée.

1) But de la catalyse

La catalyse permet fortement de **diminuer l'énergie d'activation** : donc plus de molécules de substrats subiront la réaction catalysée par l'enzyme.

Pour que les substrats se transforment en produits, il faut qu'ils atteignent le **pic énergétique** (G^*) qui correspond à un **état physique NON IDENTIFIABLE**. C'est un **état de transition**, fortement énergétique, que le substrat doit atteindre pour se commencer à se transformer en produit.

→ But de l'énergie d'activation :

Cette barrière énergétique permet aux molécules d'avoir une **certaine stabilité**. En effet, sans l' E_a toutes les molécules pourraient se décomposer spontanément.

→ A savoir :

- (1) D'un point de vue énergétique, les produits finaux de la réaction ont une énergie libre bien inférieure à celle des substrats.
- (2)
- (3) La différence entre l'énergie initiale des substrats (G_1) et le pic à franchir correspond à l'énergie d'activation.

COMMENT DEPASSER CETTE BARRIERE ENERGETIQUE ?

Il y a plusieurs moyens d'y parvenir :

- ✓ apporter de l'**énergie** au niveau de la réaction (augmentation de la T° par ex)
- ✓ ajouter un **catalyseur synthétique** qui diminue le seuil énergétique à atteindre : la vitesse de réaction sera ainsi augmentée.
- ✓ Ajout de l'**enzyme spécifique** de la réaction: même principe que le catalyseur en plus intense (vitesse de réaction très augmentée).

2) Rôle de l'enzyme

Une de leur propriété majeure est d'abaisser l'énergie d'activation, ce qui leur permet **d'accélérer la réaction** d'un facteur **10^6 à 10^7**

BUT : permet aux C et aux tissus d'avoir des réactions se déroulant dans les temps adaptés aux besoins physiologiques.

COMMENT L'ENZYME BAISSÉ-T-ELLE L'E_a ?

- Soit **directement**
- Soit indirectement avec des **intermédiaires** qui ont des énergies d'activation plus basses

B) LA FORMATION DU COMPLEXE ENZYME-SUBSTRAT D'UN POINT DE VUE ENERGETIQUE

1) La formation de ce complexe

Formation du complexe ES: L'enzyme sera complémentaire au substrat **dans son état de transition** ce qui va stabiliser ce complexe et baisser l'énergie qui lui est associée. Ce complexe est stabilisé par des **interactions de faibles énergie**.

→ donc il y a une modification de la structure de l'enzyme mais aussi du substrat.

Conséquences:

- ✓ Ainsi, une partie de l'**activité catalytique** des enzymes provient de l'énergie libre générée lors de la formation du complexe ES.
- ✓ Cette **énergie de liaison** entre l'enzyme et le substrat implique une **spécificité de reconnaissance** et contribue à la catalyse.
- ✓ Les groupements du **site actif** ne sont pas complémentaires au substrat libre mais à une **conformation ES contrainte**.

Exemple de la phosphorylation du glucose par l'hexokinase :

- l'état de base, l'enzyme est en **conformation ouverte**, le glucose n'est pas fixé au site actif donc pas de catalyse.
- Quand le glucose interagit avec l'hexokinase, l'enzyme change de conformation et le **SA va se refermer** sur la molécule de glucose avec laquelle il sera alors complémentaire. On a un démarrage de la catalyse et le glucose commence à être transformé en glucose 6P.

2) Les implications de ce complexe

Lors de la formation du complexe ES, pour que la complémentarité soit parfaite, il doit y avoir :

- des changements de **conformation**
- une **flexibilité** de l'enzyme pour s'adapter à son substrat : elle est permise par certains AA (**les auxiliaires**) qui vont permettre de conserver la structure acquise.

V. LES COFACTEURS

A) DEFINITION

Ils sont nécessaires à certaines enzymes pour qu'elles puissent fonctionner. Certaines n'en ont pas besoin, elles auront donc exclusivement une structure protéique (**chymotrypsine**, **α -glucosidase**).

Définition des cofacteurs :

- ✓ soit des **ions métalliques** donc des cations divalents inorganiques (Mg^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+})
- ✓ soit des **coenzymes** donc des molécules organiques et non protéiques (NAD^+ , $NADP^+$, FAD, TPP).

Coenzyme et cofacteur sont 2 choses différentes : un **coenzyme est un type de cofacteur**.

L'APOENZYME RECONNAIT SPECIFIQUEMENT LES COFACTEURS DONT ELLE A BESOIN ET NON L'INVERSE !!!

B) ROLE DES COFACTEURS

<i>IONS</i>	<i>COENZYME</i>
✓ transporter ou compléter un substrat	✓ transporter un intermédiaire réactionnel ou un substrat → coenzyme A dans le transport et l'activation des <i>acides gras</i>
✓ participer à la structure active de l'enzyme → Zn²⁺ pour la structure de la <i>carboxypeptidase</i>	✓ accepter un produit de la réaction → <i>électron, H⁺</i> par le NADH⁺

C) LES COENZYMES

1) Leur synthèse

Les coenzymes sont des molécules biologiques synthétisées à partir d'**intermédiaires métaboliques**.

Si la synthèse n'est pas possible par l'organisme, toute ou une partie de la molécule doit être apportée par l'alimentation : **les vitamines**.

TABLEAU A CONNAITRE +++

<i>vitamine</i>	<i>nom</i>	<i>coenzyme</i>	<i>rôle</i>
B1	thiamine	Thiamine pyrophosphate	- assimilation des glucides - métabolisme des AA
B2	Riboflavine	FMN/FAD	- métabolisme énergétique - métabolisme des AA
B3	Nicotinamide	NAD/NADP	- métabolisme glucidique/lipidique/protidique
B5	Acide Pantothénique	Coenzyme A	Métabolisme des acides gras constituant du coenzyme A
B6	Pyridoxine	Pyridoxal phosphate	- métabolisme des AA
H	Biotine	Biotine	- métabolisme des AA

			- métabolisme des corps gras - néoglucogénèse
--	--	--	---

2) Les libres ou associés

Parmi les coenzymes, il existe les stoechiométriques (libres) et les catalytiques ou prosthétiques (associées).

BILAN :

Coenzyme co-substrat/stoechiométrique	Coenzymes catalytiques/prosthétiques
liaisons <u>faibles</u> de type électrostatique	liaisons <u>fortes</u> de type covalente
liaison renouvelée à chaque réaction	liaison définitive et irréversible (maturation post-traductionnelle)
la concentration du coenzyme est voisine de celle du substrat d'où son nom	Concentration proche de celle en enzyme
Ce sont des coenzymes libres qui se dissocient de l'apoenzyme à chaque réaction	impliqués au niveau du site catalytique des enzymes
transporteur	activateur
NAD+, NADP+, CoA-SH	FAD, Pyridoxal phosphate



3)

Classement fonctionnel

des coenzymes

- **réaction d'oxydo-réduction**

- pyridinique (NAD⁺, NADP⁺)
- flavinique (FMN/FAD)
- hématinique (cytochrome C)
- quinonique (coenzyme Q)

- **réaction de transfert de groupement**

- ceux associés à des complexes multienzymatique
- transfert de groupements acyl
- transfert de groupements amines
- transfert de groupements monocarbonés

I. REACTION D'OXYDO-RÉDUCTION

Définition : Réaction dans laquelle il y a un transfert d'électrons

1) les pyridiniques (NAD⁺ / NADP⁺)

Leur partie réactionnelle est le nicotinamide

a) le NAD = Nicotinamide adénine Dinucléotide

Rôle	Type de réaction	Origine	Réactivité
transporte 2 électrons et 1H ⁺ (soit un H ⁻)	oxydations (voies cataboliques) surtout mitochondriales	vitamine B3	le plus souvent à l'état oxydé donc : plus de NAD ⁺ que de NADH+H ⁺

La réoxydation du coenzyme s'effectue en conditions :

- aérobie : au niveau de la **chaîne respiratoire** mitochondriale
- anaérobie : par **fermentation** lactique
-

Ex de réactions :

- alcool I → aldéhyde → acide
- alcool II → cétone <= amine

b) NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

Rôle	Type de réaction	Origine	Réactivité
transporte 2 électrons et 1H+ (soit un H-)	réductions (voies anaboliques) surtout cytoplasmiques	vitamine B3	il fonctionne le plus souvent à l'état réduit ainsi on a plus de NADPH+H+ que de NADP+

NADP = NAD + phosphate en 2'

La réduction du coenzyme s'effectue :

- au niveau de la voie des **pentoses phosphates**
- par **oxydation** cytoplasmique de l'**isocitrate**

i) Réactivité du NAD et NADP

✓ les transferts d'électrons et d'H+ au cours de la réaction d'oxydo-réduction s'effectue sur l'azote du nicotamide.

le fait de rejeter un proton H+ libre permet l'électroneutralité

forme aromatique = forme oxydée = forme quaternaire
forme quinonique = forme réduite = forme tertiaire

✓ pas les mêmes propriétés physiques

le fait de passer de l'état réduit à l'état oxydé donne des caractéristiques particulières à ces molécules telles que **l'absorption à des longueurs d'onde spécifiques selon leur état.**

=> permet de connaître les concentrations respectives et les ratios

NAD+ → seulement à 260 nm **NADH** → 340 et 260 nm

1) Coenzymes flaviniques (FMN/FAD)

leur partie réactionnelle est le noyau isoalloxazine

a) FMN (flavine mononucléotide)

FMN = groupement phosphate + riboflavine
riboflavine = ribitol + isoalloxazine

<i>Rôle</i>	<i>Type de réaction</i>	<i>Origine</i>	<i>Réactivité</i>
transporte 2 électrons et 2H+ (soit 2atomes H)	oxydo-réduction	vitamine B2 (peu abondant sous cette forme)	

b) FAD (flavine adénine dinucléotide)

FAD = FMN + Adénosine 5 monophosphate

<i>Rôle</i>	<i>Type de réaction</i>	<i>Origine</i>	<i>Réactivité</i>
transporte 2 électrons et 2H+ (soit 2atomes H)	oxydo-réduction	vitamine B2 (abondant sous cette forme)	

Réactivité FAD et FMN

Le transfert des électrons et des H⁺ s'effectue au niveau des 2 azotes de l'isoalloxazine par un changement de doubles liaisons.

Ce sont des **flavoprotéines** qui existent sous 2 formes :

- ✓ **oxydables** : capables de transférer les H⁺ qu'elles transportent directement sur l'oxygène donnant ainsi du **peroxyde d'hydrogène**. Souvent situées au niveau du cytoplasme.
- ✓
- ✓ **non oxydables** : situées dans les membranes internes mitochondriales (eucaryotes) et associées aux transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire.

1) les coenzymes hématiniques (cytochrome C)

Leur partie réactionnelle est le noyau porphyrine

<i>Rôle</i>	<i>Caractéristiques</i>	<i>Structure du noyau porphyrine</i>	<i>Transport</i>
transport d' 1 seul électron à la fois dans la chaîne respiratoire par changement de la valence de l'atome central	s'associe sur les cystéines des chaînes protéiques de l'enzyme	atome de fer lié à 4 atomes d'azote .	dans son état réduit (Fe 2+) le fer prend 1 électron et prend l'état oxydé (Fe 3+)

1) coenzyme quinonique/ubiquinone (coenzyme Q)

Sa partie réactionnelle est la structure ubiquinone

<i>Rôle</i>	<i>Caractéristiques</i>	<i>Production</i>	<i>Réactivité</i>
transfert d' électrons	Liposoluble Se trouve dans les membranes cellulaires	synthétisé par les Cellules	

II) REACTIONS DE TRANSFERTS DE GROUPEMENTS

1) TPP : thiamine pyrophosphate

Sa partie réactionnelle est le **souffre** du noyau thiazole

<i>Rôle</i>	<i>Types de réactions</i>	<i>Origine</i>	<i>Caractéristiques</i>
transfert de groupements acyls	décarboxylation oxydative des acides α cétoniques	vitamine B1	solidement fixé à l'apoenzyme

TPP = vitamine B1 + pyrophosphate

2) Acide lipoiique (fonctionne en séquence avec le TPP)

Sa partie réactionnelle est les **2 atomes de soufre** du noyau 1,2-dithiol

<i>Rôle</i>	<i>Types de réactions</i>	<i>Types de liaisons</i>	<i>Caractéristiques</i>
accepteur immédiat de l' aldéhyde généré par le TPP	permet les réactions de décarboxylation oxydative des acides alpha cétoniques	liaison amide avec la <u>lysine</u> de l'apoenzyme	- solidement fixé à l'apoenzyme - intervient immédiatement après le coenzyme TPP

3) coenzyme A (CoA)

Sa partie réactionnelle est le **SH** du résidu B-mercaptoéthylamine

<i>Rôle</i>	<i>Origine</i>
transporte les groupements acyls et acétyls	vitamine B5 : pantothénate

4) la biotine

Sa partie réactionnelle est le groupement **NH**.

<i>Rôle</i>	<i>Types de réactions</i>	<i>Origine</i>	<i>Caractéristiques</i>
transfert des groupements carboxyles	- isomérisation - transport des groupements méthyls , - réduction des groupements formyls ou hydroxyméthyls	vitamine H	coenzyme des carboxylases pour les réactions de carboxylation

5) pyrodixal phosphate

Sa partie réactionnelle est la fonction aldéhyde sur le **carbone 4**

<i>Caractéristiques</i>	<i>Origine</i>	<i>Réactivité</i>
coenzyme des transférases mais aussi des carboxylases	vitamine B6 (pyridoxamine)	Par transfert de groupements

Pyridoxal phosphate = B6 + groupement phosphate

f) Exemple de complexe multi-enzymatique : la pyruvate déshydrogénase

Ce complexe participe au **métabolisme du pyruvate**. Le pyruvate arrive au niveau de la membrane de la mitochondrie et sera pris en charge par ce complexe pour générer de l'**acétyl coA**.

DE QUOI EST COMPOSE CE COMPLEXE ?

3 enzymes et 5 coenzymes :

- ✓ E 1 : **pyruvate déshydrogénase** associée au **TPP**
- ✓ E 2 : **dihydrolipoamide acétyltransférase** associée à l'**acide lipoïque**
- ✓ E3 : **dihydrolipoamide déshydrogénase** associée au **FAD**
- ✓ coenzymes : NAD⁺ et COASH

le **NAD** et le **CoASH** sont des **co substrats** car contrairement aux autres coenzymes ils ne sont pas rattachés aux enzymes et peuvent servir à d'autres réactions

ETAPES :

- 1) **décarboxylation du pyruvate** → formation de l'**hydroxyéthyl** s'associant au TPP
- 2)
- 3) l'**hydroxyéthyl** s'**associe au soufre de l'acide lipoïque** par une **liaison thioester** fortement énergétique
- 4)
- 5) transfert du groupement acétyl **sur le CoA pour donner de l'acétyl coa** = produit final de la réaction.
- 6) → Mais les groupements SH de l'acide lipoïque sont sous leur forme réduite et non leur forme d'origine qu'il va falloir rétablir

- 7) **transfert des H⁺ des SH sur le FAD** pour donner du FADH₂
- 8) → le SH est bien sous sa forme originale mais il faut retrouver la configuration originale des FADH₂ qui sont sous leur forme réduite.
- 9)
- 10) les **2H⁺ sont transférés sur le NAD** (on retrouve le FAD) : le NADH⁺ va intégrer d'autres voies pour retrouver sa forme d'origine

BILAN: il y a donc **2 groupes de réactions** :

- ceux qui aboutissent au **produit final** de la réaction
- ceux qui permettent de **remettre les différents acteurs** dans leur état d'origine.

QCM TIME :

QCM 1 : Au sujet de l'enzymologie donnez les propositions vraies :

- A) Une enzyme agit à forte concentration et sert un grand nombre de fois
- B) L'enzyme, catalyseur biologique diminue l'énergie d'activation en formant des intermédiaires d'énergie d'activation plus basse
- C) Le site actif de l'enzyme possède un site de reconnaissance et un site catalytique.
- D) Les cofacteurs sont des coenzymes nécessaires au fonctionnement de certaines enzymes.
- E) Toutes les propositions sont fausses.

Correction : BC

- A) Faux : Elle agit à TRES FAIBLE concentration
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : Les coenzymes sont des cofacteurs et non l'inverse.

QCM 2 : A propos de l'enzymologie donnez les propositions vraies :

- A) Les coenzymes catalytiques sont liés à l'apoenzymes par des liaisons faibles (type covalente)
- B) Dans l'état post stationnaire la concentration du complexe ES augmente
- C) La constante de Michaelis et Menten est proportionnelle à l'affinité de l'enzyme pour le substrat
- D) Le ph, la température ou la localisation sont des processus non physico chimiques qui contrôlent l'activité enzymatique.
- E) Toutes les réponses sont fausses

Correction : E

- A) Faux : Liaisons FORTES pour les coenzymes cataytiques = prosthétiques
- B) Faux : C'est dans l'état pré stationnaire que ES augmente fortement
- C) Faux : Inversement proportionnel
- D) Faux : processus physico-chimiques