

# Enzymologie – Partie 1

## I/ Généralités

L'enzymologie est une branche de la biochimie qui étudie les propriétés structurales et fonctionnelles des enzymes. On y étudie, entre autres, la cinétique enzymatique, c'est-à-dire les vitesses de catalyse des enzymes.

### Structure des enzymes ++ :

- Sont **TOUTES** des protéines (**SAUF** les ribozymes qui sont des ARN<sup>+++</sup>)
  - Leur synthèse est déterminée **GENETIQUEMENT**  
*normal on vient de dire que se sont toutes des protéines = enchaînement d'AA codé par l'ADN*
- Sont présentes dans **TOUS** les compartiments cellulaires (= organites)
  - Leur activité de catalyse est assurée par le **site actif**

Les organismes vivants sont le siège de milliers de réactions biochimiques très diverses nécessitant une gestion de l'énergie et de ces réactions.

Ces réactions doivent répondre aux besoins physiologiques de la cellule :

- Nécessité de pouvoir **se dérouler rapidement** à un rythme imposé par les besoins de la cellule
- Nécessité **d'être spécifiques** pour que la transformation d'un substrat donné aboutisse toujours au même produit (absence de réactions secondaires indésirées)

Ces réactions s'effectuent dans des conditions dans lesquelles normalement elles ne pourraient PAS se faire car des macromolécules biologiques appelés enzymes permettent à ses réactions d'avoir lieu+

*Pour des réactions qui ont besoin d'enzymes : Sans elles, les réactions se feraient trop longtemps = incompatibles pour le fonctionnement du corps / à la vie DONC réactions possibles cinétiquement grâce aux enzymes A DIFFERENCIER de thermodynamiquement possible ! (cf bioénerg) Les réactions sont déjà thermodynamiquement favorable.*

## Pourquoi s'intéresser aux enzymes = macromolécule = protéine = catalyseur biologique ???

- Importance physiologique majeure pour :
  - o Des transformations métaboliques
  - o Les régulations
- De nombreuses pathologies sont liées à une altération du fonctionnement des enzymes (soit une diminution de leur activité, soit une suractivité)
- Les enzymes sont donc les cibles des nombreux médicaments (ex : les inhibiteurs pharmacologiques cf Pharmaco)

### Définition

## ✧ Les enzymes ✧

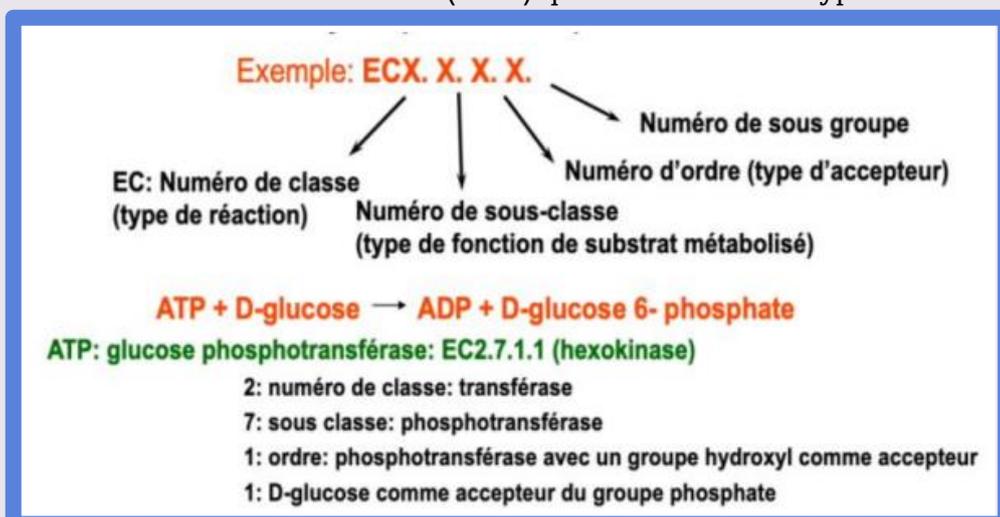
- Sont des **protéines** (SAUF LES RIBOZYMES qui sont des ARN) qui possèdent des propriétés de la catalyse (= accélération) pour une réaction **spécifique**
- Les protéines enzymatiques sont synthétisées par les êtres vivants et donc leur synthèse est **déterminée par un programme génétique** *logik*
  - **Augmentent la vitesse** des réactions chimiques *logik*
  - **Ne modifient pas le résultat** de la réaction chimique *logik ils accélèrent juste*
- Agissent à des **concentrations très faibles** *logik car présent dans TOUS les compartiments*
- Leur **structure** se trouve **inchangée** à la fin de la réaction *C'est le substrat qui se fait transformer*
  - Nom : type de la réaction catalysée + suffixe « ase »

## A) Classification enzymatique

C'est une classification de l'Union internationale de Biochimie (1961) qui est basée sur le type de réaction catalysée :

- 6 types de réactions
- Identification des enzymes par 4 chiffres précédés de EC (*lisez la diapo*)

Exemple du diapo : la phosphorylation du glucose opérée par une hexokinase pour donner de l'ADP et du Glucose 6 phosphate.



Le nom systémique de l'hexokinase est en réalité une EC 2.7.1.1 (ATP glucose phosphotransférase)

## B) Autre classification des enzymes

Selon cette classification, les différentes enzymes sont regroupées en 6 différentes classes qui représentent le type de réaction catalysée. (*déjà vu en intro métabo*)

	Classes	Type de réactions catalysées
1	Oxydo-réductases	Réactions d'oxydoréduction
2	Transférases	Transfert de groupements fonctionnels
3	Hydrolases	Réaction d'hydrolyse
4	Lyases	Addition de groupes sur double liaison ou élimination de groupe pour former une double liaison
5	Isomérase	Transfert de groupes à l'intérieur d'une molécule
6	Ligases	Formation de liaison C-C, C-S, C-O ou C-N Nécessite la fourniture d'énergie (ATP)

## C) Les intervenants d'une réaction enzymatique

**Le substrat :** Molécule qui entre en réaction **pour être transformée** grâce à l'action d'une enzyme

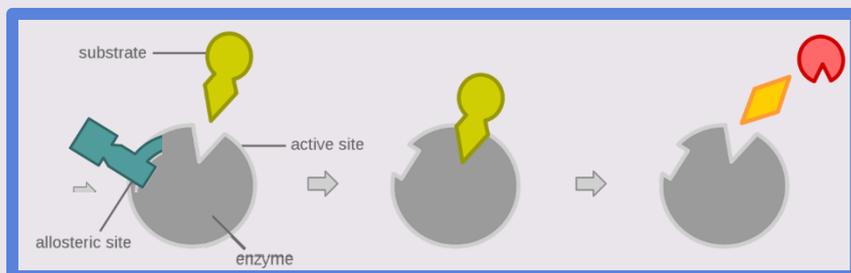
**Le produit :** Le substrat est transformé en produit final de la réaction. C' est la **molécule produite** au cours de la réaction catalysée par une enzyme.

**Un ligand :** Corps chimique qui présente une liaison **spécifique** avec une protéine (enzyme, récepteur...).

*Donc ici sur ce schéma, le substrat est un ligand mais la molécule en bleu jade l'est aussi*

**Cofacteurs/ Coenzymes :** Composés chimiques nécessaires au déroulement de certaines réactions enzymatiques. Les cofacteurs sont des composés chimiques, normalement des ions (souvent bivalents) qui participent aux réactions enzymatiques pour : *parce qu'ils sont au TAP !*

- **T**ransport d'un substrat (ou d'une partie)
  - **A**cception d'un produit (ou d'une partie)
  - **P**articipation au maintien de la structure active de l'enzyme
- ➔ Les Cofacteurs et les Coenzymes sont indispensables au déroulement de **certaines** réactions.



Les cofacteurs sont plutôt des ions métalliques :  $Mg^{2+}$ ;  $Cu^{2+}$ ;  $Mn^{2+}$  ...

Les coenzymes font partie de la famille des cofacteurs mais sont plutôt des molécules biologiques : NAD, FMN, TPP ...

L'enzyme (ayant besoin d'un cofacteur) prend 2 noms selon la présence ou l'absence de celui-ci :

1. **Apoenzyme** : Seulement la partie **protéique** de l'enzyme. Enzyme **INACTIVE** car en absence de son cofacteur/coenzyme.  
 ⇒ Si l'enzyme pour fonctionner a besoin d'un cofacteur/ coenzyme l'apoenzyme seule est inactive++++
2. **Holoenzyme** : Enzyme **ACTIVE** associée à son cofacteur ou à son coenzyme

## II/ Propriétés de la catalyse

### a. Energie d'activation

### b. Etat de transition

### c. Règles de la catalyse

### a. Energie d'activation *une énergie donc une quantité*

C'est la **barrière énergétique** que le substrat doit franchir pour être transformé en produit et donc pour que la réaction puisse avoir lieu.

**Cette barrière va être abaissée par les enzymes.**

**EXEMPLE** : Si on considère la réaction de réduction d'une molécule d'eau oxygénée en eau + oxygène

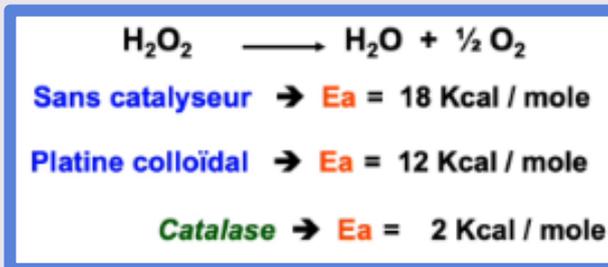
- Sans catalyseur = en état basal, cette réaction a une énergie d'activation de 18Kcal/mole.

- En présence d'un catalyseur chimique, telle qu'une platine colloïdale, l'énergie d'activation diminue à 12 Kcal/mole.

- En présence d'une catalase = l'enzyme spécifique de cette réaction, l'énergie d'activation va être réduite à 2 Kcal/mole.

→ Du fait de l'abaissement de la barrière énergétique en présence de l'enzyme spécifique (la catalase) il y aura un nombre plus important de molécules d' $H_2O_2$  qui pourront être transformées en eau et oxygène.

Fun fact : Une molécule de catalase permet la dégradation de  $5.10^6$  molécule d' $H_2O_2$  par minute.



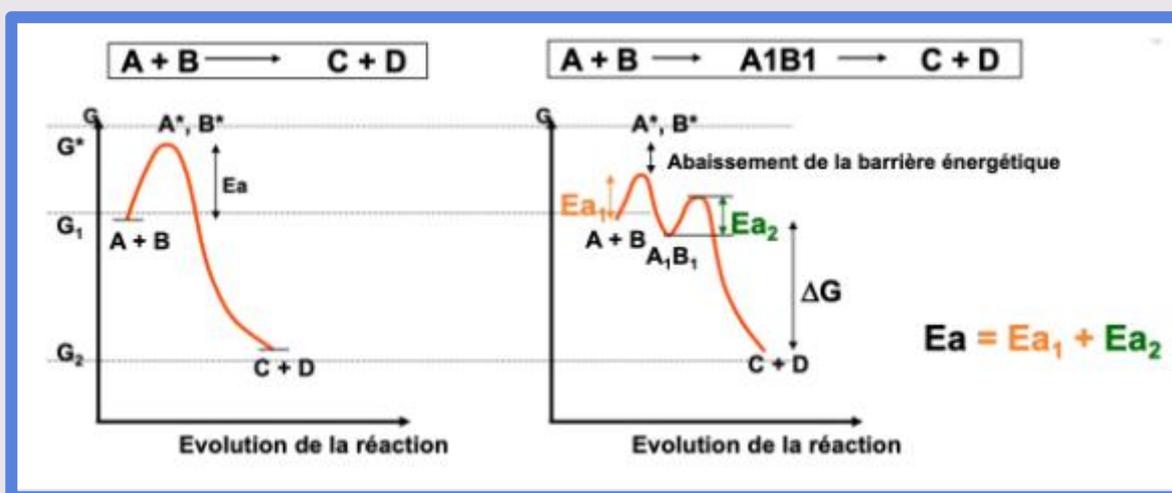
## CONCLUSION

⇒ Les enzymes sont des catalyseurs biologiques et permettent d'accélérer une réaction et donc **d'augmenter la vitesse** de réaction d'un facteur  $10^6$  à  $10^{17}$  (ordre de grandeur).

⇒ **C'est grâce à l'abaissement de cette  $E_a$  que les enzymes permettent à la réaction d'avoir une vitesse plus importante ++++**

Remarque : Cette baisse de l' $E_a$  peut être directe ou se faire par la formation d'un ou plusieurs intermédiaires de réaction chacun ayant une  $E_a$  plus basse.

L' $E_a$  totale de la réaction sera due à la somme des  $E_a$  des différentes réactions intermédiaires.



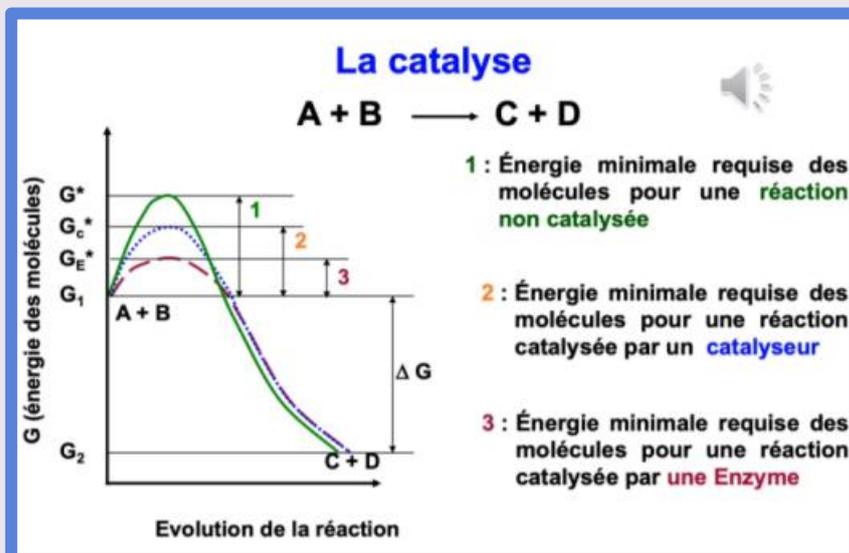
## b. Etat de transition *un état donc un point*

C'est **l'état énergétique maximal** dans lesquels les substrats A et B sont en train de subir des modifications structurales pour être transformés en C et D.

- D'un point de vue thermodynamique, cette réaction est faisable car les produits de réaction : C et D ont une énergie inférieure aux substrats A et B.  
#Bioénergétique

- Pour que les substrats puissent être transformés en C et D, ils doivent atteindre un état de transition indiqué ici avec les étoiles.

- La différence d'énergie entre les substrats A et B et cet état de transition représente l'énergie d'activation ( $E_a$ ).



## c. Règles de la catalyse et rappel ++++++

### LES ENZYMES

- Sont des **protéines** (sauf ribozymes = ARN) qui agissent comme des catalyseurs biologiques
- Agissent à **très faibles concentrations** *logik car elles sont présentes dans TOUS les organites*
- Sont **inchangées** à la fin de la réaction DONC **servent un très grand nombre de fois**
- Ne modifient **PAS** l'équilibre d'une réaction réversible mais permet à celui-ci d'être atteint plus rapidement.

*Equilibre = autant de substrat que de produit*

- **Augmentent** très fortement la **vitesse** de réaction avec laquelle l'équilibre est atteint mais n'affecte pas cette dernière.

*fois  $10^6$  à  $10^{17}$  pour rappel*

- Sont **spécifiques** d'une réaction donnée

*Ca c'est que des rappels loulous 😊*

- Un catalyseur **ne provoque jamais** la réaction chimique

*(il est juste là pour accélérer la réaction)*

De ce fait, un catalyseur ne rend jamais possible une réaction qui est thermodynamiquement impossible (cad  $\Delta G > 0$  #Bioénergétique)

## III/ SPÉCIFICITÉ DES ENZYMES

Théoriquement : une seule réaction sur un seul substrat (*on dit bien théoriquement les loulous !!!*)

2 types de spécificité :

- 1- Vis-à-vis de la **réaction**
- 2- Vis-à-vis du **substrat** de la réaction

### ■ Spécificité de réaction

A partir d'une molécule donnée, 1 seul type de réaction est possible (sous réserve que l'environnement réactionnel et le fonctionnement de l'enzyme soient optimaux)

### ■ Spécificité de substrat

Nécessité d'avoir la bonne liaison au bon endroit = relation structure/activité

!!! Fréquemment une enzyme n'intervient pas que sur la molécule unique mais sur une classe de substrats !!!

La spécificité est une des caractéristiques principales des enzymes, elle permet d'éviter la formation de ses produits par des catalyseurs chimiques (qui sont moins spécifiques)

2 problèmes peuvent se poser concernant la spécificité de substrat :

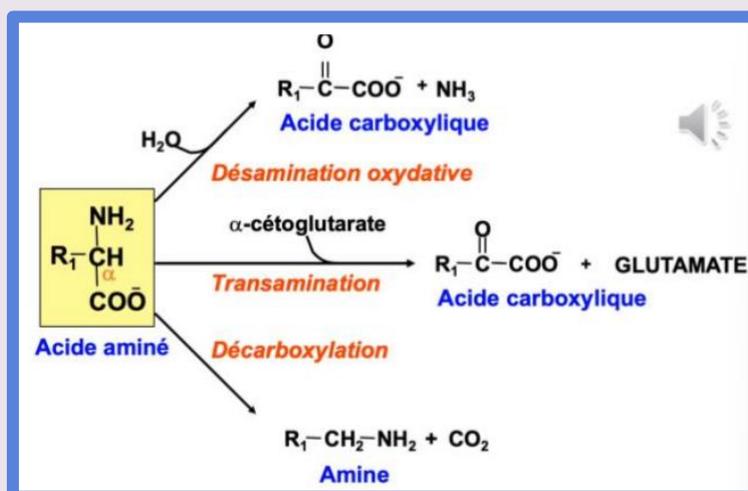
- 1- Un problème de conformation : Est-ce que le substrat est facilement accessible ?  
*On en a parlé lorsqu'on a parlé d'environnement réactionnel*
- 2- Un problème chimique : Est-ce que la réaction chimique est possible ?

## A) Spécificité de réaction

Un substrat donné est susceptible de subir différents types de réactions pour générer différents produits et chacune de ces réactions est catalysée par des enzymes différentes spécifiques bien que le substrat soit le même.

**EXEMPLE** : Un Aa peut subir un processus de

- Désamination oxydative pour générer un acide carboxylique et du NH<sub>3</sub> ces réactions sont catalysées par des désaminases.
- Transamination pour générer de l'Acide carboxylique et du glutamate réalisée par les transaminases
- Décarboxylation et générer de l'Amine et du CO<sub>2</sub> réalisées par des décarboxylases

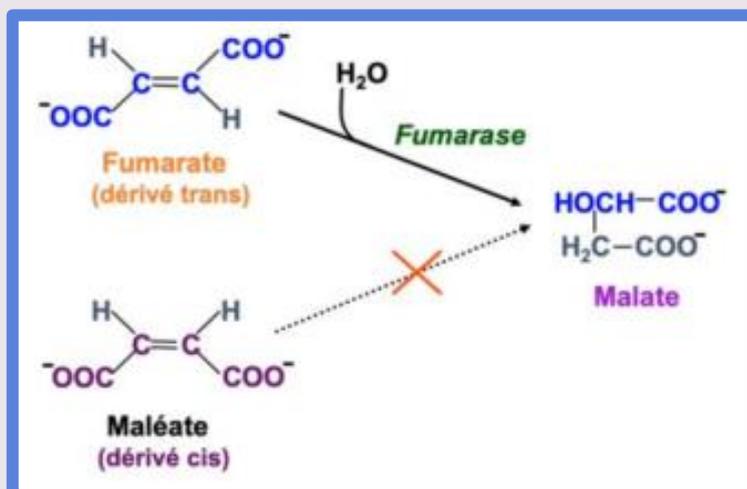


## B) Spécificité du Substrat

### 1. Stéréospécificité : Vis-à-vis d'un seul isomère (cis ou trans)

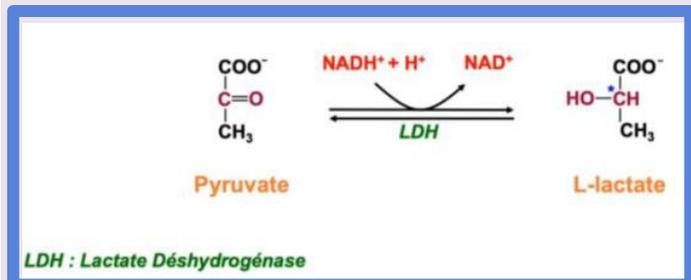
Certaines enzymes sont capables de reconnaître deux isomères optiques l'un de l'autre et d'agir seulement sur l'UN des deux.

**EXEMPLE** : La Fumarase qui a une spécificité vis-à-vis des isomères CIS et TRANS et ainsi va permettre l'addition d'une molécule d'eau sur la double liaison de l'acide fumarique (fumarate) qui se trouve dans sa forme TRANS pour générer du malate en revanche elle ne va PAS agir sur une molécule de maléate qui présente la même structure que le fumarate mais a une conformation de type CIS.



## 2. Stéréospécificité : Vis-à-vis d'une forme optiquement active (R/S)

**EXEMPLE** : C'est le cas de la lactate Déshydrogénase (LDH) qui réduit le pyruvate en lactate par l'intervention de molécules de NADH+.



Le lactate existe sous 2 différents types isomériques le D et le L, il y a donc des enzymes LDH qui vont permettre la production de lactate dans sa forme L et d'autres permettent la production de lactate sous forme d'isomère D.

## 3. Stéréospécificité : Vis-à-vis du type de liaison et de groupement

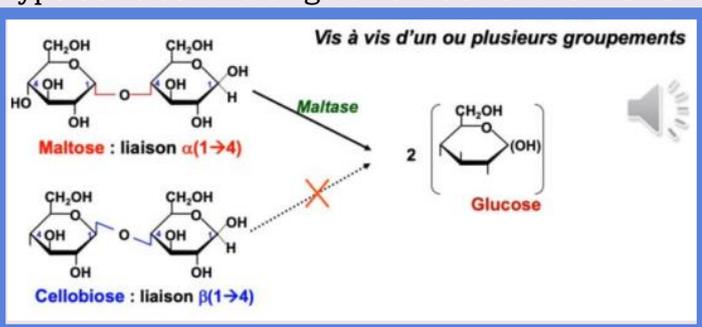
Ce n'est pas seulement la liaison seule qui est reconnue MAIS aussi l'environnement de la liaison.

**EXEMPLE** : Parmi les enzymes protéolytiques (protéases) qui hydrolysent les **liaisons** peptidiques on peut distinguer :

o Les EXOpeptidases qui les lient à l'extrémité des chaînes et détachent ainsi les AA du coté N ou C terminal

o Les ENDOpeptidases qui hydrolysent les liaisons peptidiques à l'intérieur des chaînes.

Parmi les endopeptidases, on a l'exemple de la chymotrypsine qui coupe plus facilement des liaisons qui se trouvent à droite des AA aromatiques (Phé et Tyr). Il y a donc la reconnaissance du type de liaison mais également de l'environnement.

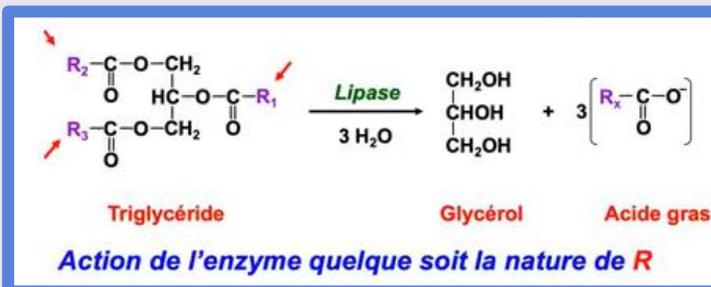


Certaines enzymes présentes aussi une spécificité vis-à-vis d'un ou plusieurs **groupements**.

C'est le cas de la maltase qui hydrolyse le maltose pour donner deux molécules de glucose. Elle est capable de rompre une liaison entre les molécules de glucose qui sont dans une

liaison de type  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  dans le maltose. Si cette liaison entre les 2 glucoses est de type Béta comme dans la molécule de cellobiose la réaction ne peut pas être catalysée par la maltase.

Certaines enzymes **ont une spécificité moins stricte ou plus large** vis-à-vis des groupements fonctionnels de substrat. C'est le cas des lipases qui sont impliquées dans l'hydrolyse des TG et des AG pour générer du glycérol. Ces lipases vont agir indépendamment de la nature de l'AG qui compose le TG.



***RAPPEL TIIMEEEEE :***

Les enzymes sont :

- Des catalyseurs biologiques
- Toutes des protéines (SAUF les Ribozymes) *Encore et toujours*
  - Présentes dans TOUS les compartiments cellulaires
  - Leur synthèse est déterminée génétiquement
- L'activité de catalyse est assurée par le site actif (SA)

Les enzymes sont spécifiques :

- Agissent à des concentrations très faibles
- Augmentent la vitesse des réactions chimiques
- Ne modifient pas le résultat de la réaction chimique
- N'affectent pas l'équilibre d'une réaction réversible, mais augmentent très fortement la vitesse avec laquelle l'équilibre est atteint
- Leur structure se retrouve inchangée à la fin de la réaction

## IV/ STRUCTURE PROTÉIQUE DES ENZYMES ET NOTION DE SITE ACTIF

La spécificité d'une réaction enzymatique dépend du degré de complémentarité entre la structure de l'enzyme et la structure du substrat. Cette complémentarité est déterminée par le site actif qui représente une **petite** partie de l'enzyme capable de **RECONNAITRE et de TRANSFORMER** le substrat.

### LE SITE ACTIF +++++

= site de fixation du (ou des) substrat (qui sont reconnus)  
+ site catalytique (transformation du substrat)

*Mais Minh Nhat ça fait 10 ans que tu nous parles de site actif mais c'est quoi plus précisément ?*

Le site actif se compose de plusieurs acides aminés organisés en 4 types *CACI (prononce kaki pelo)*

- 1- Les Aa de **C**ONTACT
- 2- Les Aa **A**UXILIAIRES
- 3- Les Aa de **C**ONFORMATION
- 4- Les Aa **I**NDIFFERENTS



1- Les Aa de <b>CONTACT</b>	2- Les Aa <b>AUXILIAIRES</b>	3- Les Aa de <b>CONFORMATION</b>	4- Les Aa <b>INDIFFERENTS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Interactions directes avec le substrat (liaison, distance) =&gt; donc spécificité de reconnaissance du substrat</li> <li>- Nombre &lt; 10 (Arg, Asp, Cys, Glu, Lys, His, Ser, Tyr, Thr) <i>Mnémono : DERKH STY C</i></li> <li>- Pas forcément proches dans la séquence primaire protéique MAIS se retrouvent proches lorsque la protéine assume une conformation tridimensionnelle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pas d'interaction avec le substrat</li> <li>- Proches du site catalytique pour assurer la flexibilité du site actif</li> <li>- Donc rôle essentiel dans le fonctionnement de l'enzyme</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- N'interviennent pas dans la réaction Enzymatique</li> <li>- Stabilisent l'enzyme sous sa forme Réactionnelle active</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- N'interviennent pas dans la réaction Enzymatique</li> <li>- Localisés aux extrémités N et C de la protéine</li> <li>- Nombre variable</li> </ul>

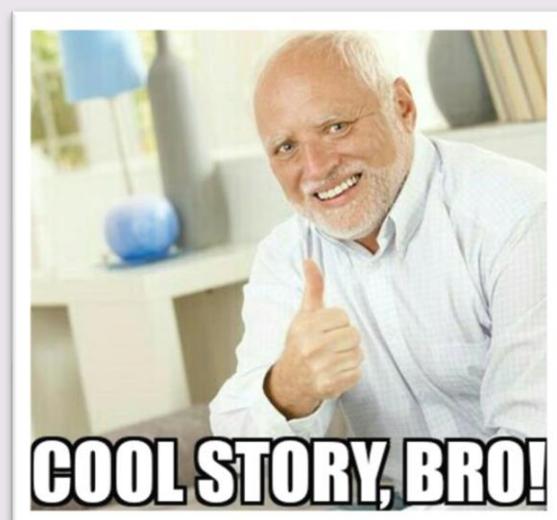
## A) Complexe enzyme-substrat

La formation du complexe enzyme-substrat est caractérisée par une certaine **spécificité** voire stéréospécificité due au fait que la molécule de substrat doit avoir plusieurs groupements fonctionnels, dans une configuration spatiale bien définie afin qu'il puisse **interagir de façon optimale** avec les groupements fonctionnels correspondants **au niveau du SITE ACTIF** de l'enzyme (interaction substrat-site actif)

Les groupements de l'enzyme ne sont pas proches les uns des autres d'un point de vue de la structure primaire de l'enzyme (en termes de séquence d'Aa) MAIS ils le sont d'un point de vue de la structure tridimensionnelle.

*#RappelDoncImportant+++++*

En effet, ce sont les repliements de la chaîne protéique de l'enzyme qui mènent au rapprochement des Aa des uns des autres pour former le SA.



## B) Caractéristiques du SA

- Le SA correspond à une **crevasse à la périphérie** de l'enzyme formée par les groupement des chaînes latérales des Aa de « contact ».
- Le SA occupe une **faible part du volume total** d'une enzyme donc seul un nombre restreint de résidus d'Aa sont impliqués dans la formation du SA.
- Le SA constitue un **micro-environnement** unique → l'association étroite entre SA et substrat implique que l'eau y est généralement exclue sauf si elle est substrat.
- Lors d'une réaction enzymatique, il y a la formation d'un complexe enzyme-substrat qui a lieu **grâce** au site actif de l'enzyme.

### LE SITE ACTIF +++++

= site de **fixation** du (ou des) substrat où ils sont reconnus  
+ site **catalytique** (transformation du substrat)

2 rôles du SA : RECONNAITRE + TRANSFORMER

## C) AA et site actif (enzyme/substrat)

Les liaisons qui interviennent lors de la formation du complexe enzyme-substrat **sont les mêmes** que celles qui sont responsables de la structure spatiale des protéines (*cf AA + Prot*). Elles sont de **faible niveau énergétique**. Cette énergie de liaison implique une spécificité de reconnaissance et contribue à la catalyse. En effet, une partie de l'activité catalytique des enzymes provient de l'énergie libre générée lors de la formation du complexe ES.

Les liaisons permettent l'association de certains groupements de substrat avec certains groupements des Aa de l'enzyme → Ceci rend l'association entre enzyme et substrat très spécifique = création du complexe ES.

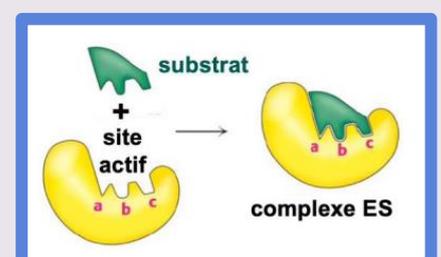
Il faut des arrangements particuliers/précis entre les atomes impliqués dans cette association. L'association étroite entre enzyme et substrat impose une forme adaptée de substrat pour pouvoir s'intégrer dans le SA (niveaux contraints).

## D) Les 2 modèles : Fischer + Koshland

### Modèle de FISCHER ou modèle clé-serrure

Le premier modèle justifiant la formation du complexe enzyme-substrat a été celui de Fisher : modèle clé serrure basé sur l'hypothèse qu'il existe une **complémentarité parfaite** entre la forme du substrat et la conformation du SA. Ce modèle est un modèle **statique** puisque la complémentarité est préexistante.

Il n'y a donc pas de déformation ni du substrat ni de l'enzyme lors de la formation du complexe enzyme-substrat.



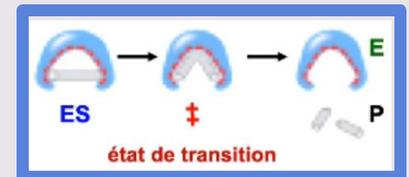
Cette hypothèse ne peut rendre compte de certaines observations :

➤ Tout d'abord, certains composés qui ressemblent chimiquement à un substrat mais qui ont des groupements moins volumineux ne sont **PAS** catalysés bien qu'ils peuvent encore mieux s'insérer dans le SA.

➤ Deuxièmement, il existe un mécanisme enzymatique appelé de fixation ordonné pour lequel le substrat B **ne peut** se fixer **QUE** si le substrat A l'est déjà. Or selon l'hypothèse clef-serrure le substrat B peut se fixer d'emblée.

⇒ Pour ces raisons, le modèle proposé par Fisher a été par la suite abandonné

## Modèle de KOSHLAND ou Ajustement induit



L'enzyme doit être **complémentaire** au substrat **dans son état de transition**. Il y a une interaction **optimale** entre les 2 pendant l'état de transition (*Rappel : Etat de transition = Etat énergétique maximale à laquelle les substrats A et B subissent des modifications pour devenir en produits C et D*)

Selon le modèle de Koshland/ modèle de l'ajustement induit, **le substrat induit un changement conformationnel du SA** de l'enzyme pour créer l'interaction optimale.

### Mais quels changements Minh Nhat ?

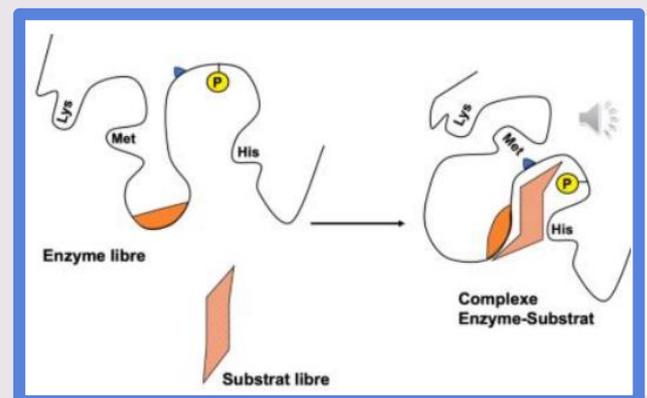
« Les orbitales (*ici on parle des orbitales électroniques : Les électrons quoi, Apprenez vos cours de chimie quoi*) des groupements catalytiques et des groupements réactionnels du substrat sont alignés de façon optimale pour l'acte catalytique. »

Dans ce modèle, les molécules qui ont une structure analogue à celle du substrat **peuvent** se fixer au niveau du SA **mais** l'orientation spatiale des groupements **ne permet pas l'acte catalytique**.

⇒ Le modèle de l'ajustement induit proposé par Koshland est basé sur l'hypothèse que **la structure de l'enzyme se déforme** pour s'adapter à celle du substrat.

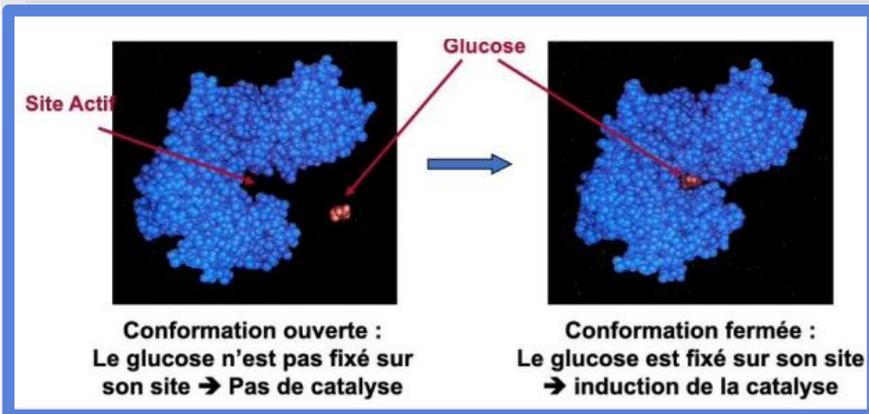
Une partie de l'énergie d'interaction entre l'enzyme et son substrat est utilisée pour permettre cette déformation qui contribuera à mettre l'enzyme dans une conformation active.

C'est un modèle **dynamique** où la structure de l'enzyme n'est pas figée.



### Un petit exemple comme l'hexokinase pour illustrer Koshland les petits loulous

L'hexokinase catalyse la réaction de phosphorylation du Glucose :  $\text{Glucose} + \text{ATP} \Rightarrow \text{G6P} + \text{ADP}$



Ici, mes bebews, on observe que la fixation du glucose induit des modifications conformationnelles et de flexibilité de l'enzyme qui sont nécessaires au déclenchement de la catalyse : on passe de conformation ouverte / pas de catalyse à conformation fermée / catalyse DONC lorsque le glucose est fixé au niveau du SA, l'hexokinase assure une conformation fermée.

Il y a donc une induction de la catalyse.

## Conclusion / Récap

- Le SA d'une enzyme est la partie de la protéine capable de **RECONNAITRE** et de **TRANSFORMER** le substrat
- La **fixation** du substrat sur l'enzyme entraîne des **modifications conformationnelles** (de l'enzyme) **nécessaires** au déclenchement de la catalyse
- Le substrat est associé à l'enzyme au niveau du SA par de multiples interactions de **faible** niveau énergétique permettant la formation du complexe ES
- Seul le **substrat** associé à l'enzyme dans le complexe ES subira la réaction enzymatique, donc la transformation chimique.

## V) Les cofacteurs et co-enzymes

De nombreuses enzymes ont exclusivement une structure protéique (chymotrypsine,  $\alpha$ glucosidase...) mais certaines enzymes ne sont actives **qu'en présence d'un cofacteur**.

⇒ Elles deviennent donc des HOLOENZYMES *#Rappel (holoenzyme = partie protéique ou apoenzyme + coenzyme #Rappel. D'ailleurs Holo ~du grec~ veut dire entier, ça va être utile en histologie)*

On rappelle qu'un holoenzyme sans cofacteur devient un APOENZYME (seulement la partie protéique, **inactive** qui va reconnaître spécifiquement les cofacteurs dont elle a besoin)

*SUPER IMPORTANT LES GARS APPRENEZZZZZZZZ*

Les cofacteurs (non protéiques) sont :

- Soit des ions métalliques (cations divalents inorganiques) :  $Mg^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ...
- Soit des molécules organiques dites coenzymes (*qui font partie des cofacteurs*):  $NAD^+$ ,  $NADP^+$ , FAD, TPP...

En ce qui concerne les ions métalliques, ils :

**T**ransportent ou complètent un substrat

**P**articipent à la structure de la forme active de l'enzyme (*souvenez-vous qu'ils sont au TAP*)

## Zoom sur les Coenzymes

- Les coenzymes sont des molécules biologiques synthétisées à partir d'intermédiaires métaboliques.
- Si la synthèse des coenzymes n'est pas possible par l'organisme toute ou une partie du coenzyme doit être apporté par l'alimentation : les vitamines.

### - Une bonne partie des coenzymes dérive ainsi des vitamines.

- Les coenzymes sont des cofacteurs indispensables à la catalyse enzymatique. ++

Voici un tableau récapitulatif qui présente les différents types de coenzymes et les molécules de vitamines desquels ils dérivent. **A APPRENDRE**

Vitamine	Nom	Coenzyme	Rôles
Vitamine B3	Nicotinamide	NAD / NADP	Métabolisme glucidique / lipidique / protéidique
Vitamine B5	Acide pantothénique	Coenzyme A	Métabolisme des acides gras
Vitamine B6	Pyridoxine	Pyridoxal phosphate	Métabolisme des acides aminés
Vitamine B2	Riboflavine	FMN / FAD	Métabolisme énergétique Métabolisme des acides aminés
Vitamine B1	Thiamine	Thiamine pyrophosphate	Assimilation des glucides Métabolisme des acides aminés
Vitamine H	Biotine	Biotine	Métabolisme des acides aminés Métabolisme des corps gras Néoglucogenèse

Instant mnémotechnique offert par TransaMinhNhase

Apprenez l'ordre des vitamines : B1, B2, B3, PAS DE B4, B5, B6, H

Puis associez l'ordre avec les initiales : T R N A P B

Ma phrase c'était : "Tu Restes à Nice ? Ah ... (t'as un) ProBlème ?"

B1 B2 B3 B5 B6 H

Mais libre à vous de créer votre mnémo!

Après faut apprendre à quoi correspond le T, R, N, A etc mais ces coenzymes vous allez les voir partout en métabo, ça rentrera tout seul vous inquiétez pas

Les coenzymes interviennent dans la réaction enzymatique pour :

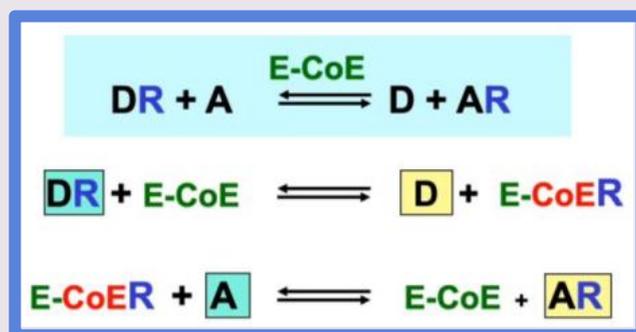
- o Transporter un intermédiaire réactionnel
- o Accepter un produit de la réaction *(encore une fois ils sont au TAP !)*

wesh Minh Nhat mais au fait ça veut dire quoi « transporter un intermé machin chouette ?

- Par exemple, si le groupement R est transféré d'un substrat D à un substrat A en présence d'une enzyme (E) et d'un coenzyme (COE) cette réaction va se faire en 2 étapes.

- D'abord R se fixe sur le complexe E-COE

- Puis il est transféré sur le 2ème substrat A et on peut observer qu'à la fin de la réaction le coenzyme est régénéré.



Selon la nature de la liaison entre le coenzyme et

l'apoenzyme, on peut reconnaître 2 catégories de coenzymes ++++++ (si t'apprends pas tmor mais tkt bebew, apprendre leurs caractéristiques c'est comme repasser le linge : c'est facile ! -> C'est **PL**ié et C'est **Li**ssé

« Coenzymes <b>CPL</b> »	« Coenzymes <b>CLS</b> »
Coenzymes <b>C</b> atalytiques <b>P</b> rosthétiques <b>L</b> iés	Coenzymes <b>S</b> toechnométriques <b>C</b> o-substrat <b>L</b> ibre
Liaisons fortes (type covalente), irréversible, définitive <i>Logik car liés</i>	Coenzyme-apoenzyme = liaisons faibles, électrostatique, renouvelée <i>Logik car Libre</i>
Concentration en coenzyme est voisine de la concentration de l'enzyme (petite) (catalytique) <i>Logik car liés à l'enzyme donc [enzyme] = [coenzyme]</i>	Concentration coenzyme même ordre de grandeur que celle du substrat <i>Logik car Co-substrat</i>
Non-dit	Energie mise en jeu enzyme-coenzyme même ordre qu'enzyme-substrat <i>Logik car Stoechnométrique</i>
<b>FAD, Pyridoxalphosphate</b>	<b>NAD+, NADP+, CoA-SH</b>
Activateur <i>Logik car catalytique</i>	Transporteur <i>Logik car Libre</i>
Ne se dissocie jamais de l'apoenzyme (maturation post-traductionnelle) <i>Logik car Liés</i>	Se dissocie de l'apoenzyme à chaque réaction Catalysée <i>Logik car Libre</i>
Sont impliqués dans le site catalytique de les enzymes <i>Logik car catalytiques</i>	Non-dit

*GLoucose m'a fait la remarque que c'est que les coenzymes Stoechnométriques / Co-substrat / Libre qui commencent par un N ou C (comme les N-term et C-Term). Tout le monde : Merciiii Louuuu*

On peut aussi obtenir un classement **fonctionnel** des coenzymes sur la base des réactions auxquels ils participent :

### 1. Coenzymes des réactions d'oxydoréduction :

- o Coenzymes PYRIDINIQUES (NAD+/ NADP+)
- o Coenzymes FLAVINIQUES (FMN/ FAD)
- o Coenzymes QUINONIQUES (Coenzymes Q)
- o Coenzymes HEMATINIQUES (Cytochrome C)

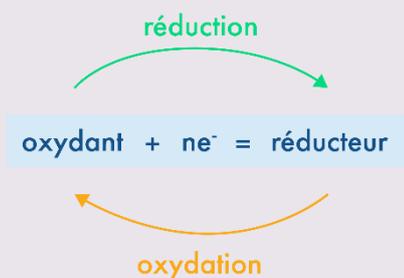
### 2. Coenzymes des réactions de transferts de groupements :

- o Coenzymes associés à des COMPLEXES MULTIENZYMATIQUES
- o Coenzymes des transferts de groupements ACYLS
- o Coenzymes des transferts de groupements AMINES
- o Coenzymes des transferts de groupements MONOCARBONES

## 1. Coenzymes des réactions d'oxydo-réductions

Les réactions chimiques d'oxydo-réduction sont caractérisées par un transfert d'électrons entre deux réactifs de départ : un oxydant et un réducteur.

- Un **oxydant** est une espèce capable de **CAPTER** des électrons
- Un **réducteur** est capable de  **CEDER** des électrons



Les électrons ne peuvent pas exister libres en solution aqueuse et donc tout électron qui est perdu par un réducteur est automatiquement capté par un oxydant.

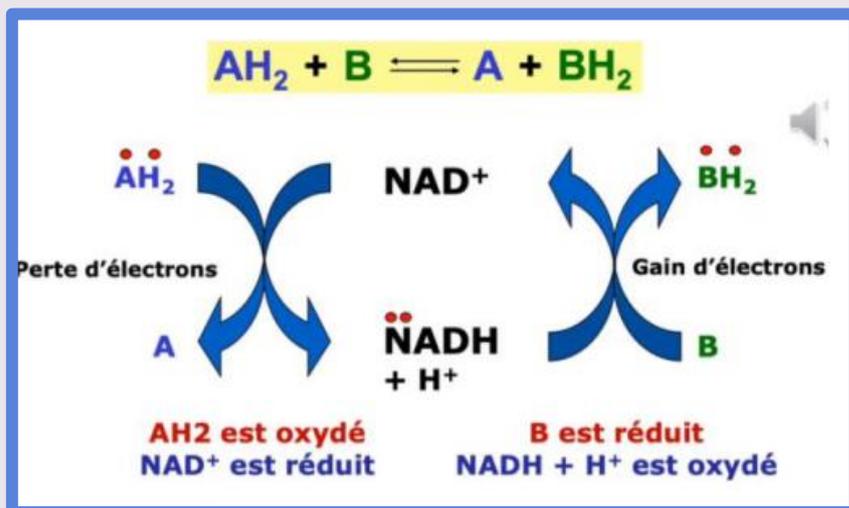
*Alors dans ma tête je me disais qu' un réducteur c'est la molécule qui a un H<sup>+</sup> or si le réducteur a un H<sup>+</sup> il lui faut un électron e<sup>-</sup> pour rester neutre donc c'est logique que le réducteur CEDE l'électron à l'oxydant.  
De rien loulou c'est pour moi <3*

Les coenzymes d'oxydo-réduction participent aux réactions d'oxydation et de réduction en transportant des électrons.



Si on prend l'exemple de la réaction ci-contre : le composé  $AH_2$  va perdre ses électrons (*car c'est un réducteur ! il a des  $H^+$  comparé à A*) et se retrouver dans un état oxydé.

Ses électrons vont, dans un premier temps, être pris en charge par une molécule de  $NAD^+$  (*kikou le coenzyme*) qui va se retrouver en état réduit :  $NADH + H^+$  (*encore une fois c'est un réducteur car il a plus de H que  $NAD^+$* )

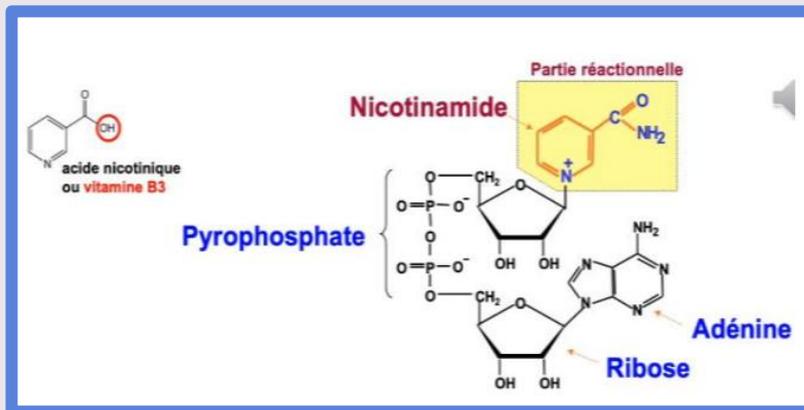


Le  $NADH + H^+$  va à son tour donner ses électrons à un accepteur : une molécule B qui va se retrouver dans l'état réduit et  $NADH + H^+$  va retrouver sa forme oxydée :  $NAD^+$

## o Coenzymes PYRIDINIQUES ( $NAD^+$ / $NADP^+$ )

# Le Nicotinamide Adénine Dinucléotide ( $NAD^+$ )

- Dérive de la vitamine B3
- Coenzyme transportant 2 électrons et un proton (*pourquoi ? parce que lorsqu'il est réduit il se transforme en  $NADH + H^+$  DONC vous voyez bien qu'un seul proton se lie à  $NAD^+$  mais l'autre proton  $H^+$  reste libre et bien sûr il nous faut 2 électrons pour compenser les charges*)
- Participe aux réactions d'oxydations dans les voies **cataboliques**
- Surtout dans les voies mitochondriales mais ubiquitaire
- Composé de 2 nucléotides :
  - o Un formé d'Adénine, de Ribose et de Phosphate



o L'autre formé de Nicotinamide, Ribose et Phosphate

- Liaison de type pyrophosphate entre les 2 nucléotides

- **Partie réactive :**  
**Nicotinamide**

- Forme oxydée ( $NAD^+$ ) : Noyau pyridine avec azote **quaternaire**

- Forme réduite ( $NADH + H^+$ ) : l'azote est **tertiaire** (*tertiaire car on a enlevé une liaison à cause du  $H^+$* )

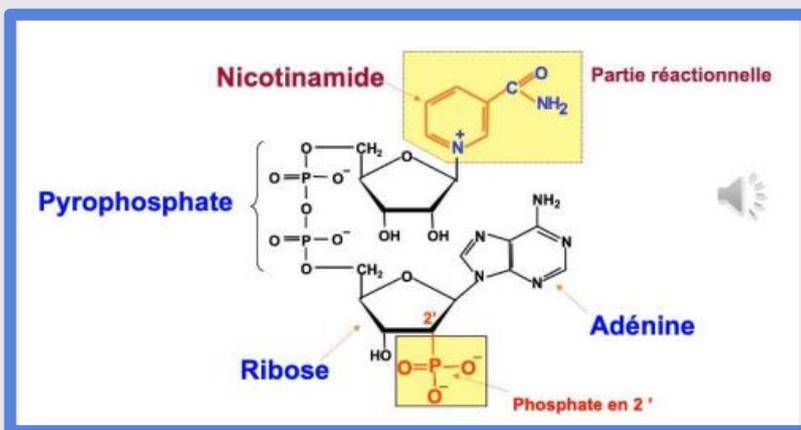
- Le transport d'électrons se fait par réduction du cycle pyridine : l'azote devient tertiaire et il y a production d'un proton

- Accepte les électrons dans les voies d'oxydation productrices d'énergie (ex : GL et lipolyse)

## ➤ Réactivité du NAD

- Fonctionne le plus souvent à l'état **oxydé** dans des réactions **cataboliques** (*logik cf intro métabo*)
- Une fois réduit en NADH<sup>+</sup> sa réoxydation va se faire :
  - o Soit en aérobie (CRM)
  - o Soit en anaérobie par fermentation lactique

# Le Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADP<sup>+</sup>)



- Transporte 2 e<sup>-</sup> et un H<sup>+</sup> (*de base on part sur du NADP<sup>+</sup>, si on le réduit il se transforme en NADPH DONC 1 proton s'est rajouté mais il faut neutraliser sa charge + et la charge + qu'on avait déjà de base donc 2 électrons*)
- Réactions de **réduction**, voies **anaboliques** (cf intro métabo encore)
- Surtout cytoplasmique
- Similaire au NAD mais en diffère par le Groupe Phosphate estérifié sur l'hydroxyle en 2' du ribose relié à l'adénine

- Partie réactionnelle : Noyau Nicotinamide

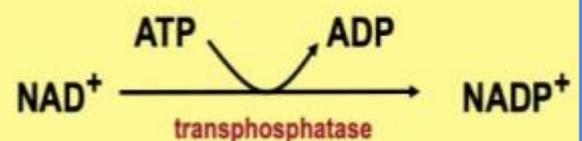
## ➤ Réactivité du NADP<sup>+</sup>

- Fonctionne le plus souvent à l'état **réduit** dans des réactions **anaboliques**

- La réduction du coenzyme s'effectue :
  - o Au niveau de la voie des Pentoses Phosphates (+++)
  - o Par oxydation cytoplasmique de l'isocitrate (+/-)

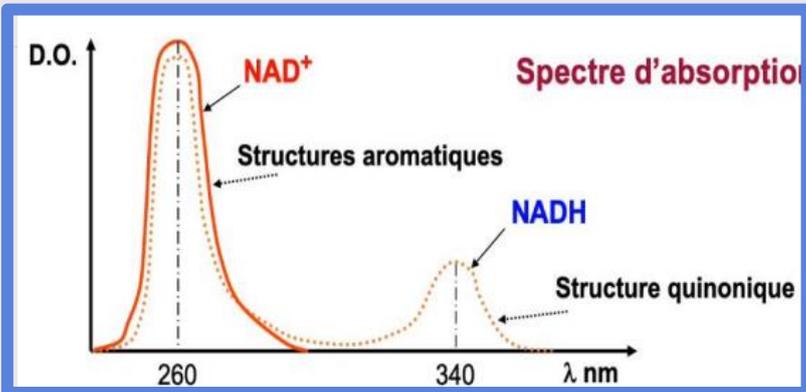
- Transformation du NAD<sup>+</sup> en NADP<sup>+</sup> est réalisée par la Transphosphatase dans laquelle le groupement phosphate est apporté par une molécule d'ATP qui sera libéré sous forme d'ADP.

### Transformation du NAD<sup>+</sup> en NADP<sup>+</sup>



## ➤ Réactivité du NAD<sup>+</sup> et du NADH<sup>+</sup>

Il est intéressant de noter que les formes réduites et oxydées de NAD<sup>+</sup> et NADP<sup>+</sup> ont des caractéristiques physiques particulières



- Le **NAD+** possède **UN** maximum d'absorption à **260nm**

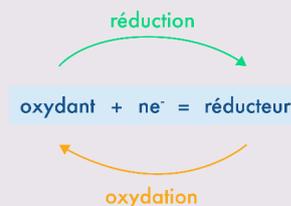
- La forme réduite **NADH+H+** (ou **NADH**) possède **DEUX** maximums d'absorption à **260nm** et **340nm**

En suivant la D.O, on pourra suivre l'évolution de la réaction enzymatique :

- Une augmentation d'absorbance à 340 nm indique une production accrue de **NADH**, la réaction va donc dans le sens de l'oxydation du substrat

- Tandis qu'une diminution de l'absorbance à 340 nm indique la consommation du **NADH** donc formation de **NAD+** la réaction va dans le sens de la réduction du substrat

*(elle n'évoque pas les longueurs d'onde d'absorbance de **NADP** et **NADPH**, ici on parle du **NAD+** et **NADH**)*



## ○ Coenzymes FLAVINIQUES (FMN/ FAD)

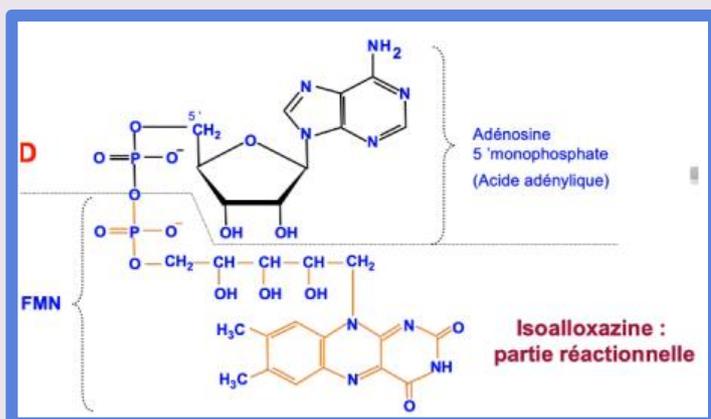
### Le Flavine MonoNucléotide (FMN)

- Dérive de la Vitamine B2
- Composée de :  
Riboflavine = Ribitol + Isoalloxazine
- **Partie réactionnelle : Noyau Isoalloxazine**
- Fixe de façon réversible 2 H+
- Impliqué dans les réactions d'oxydoréduction

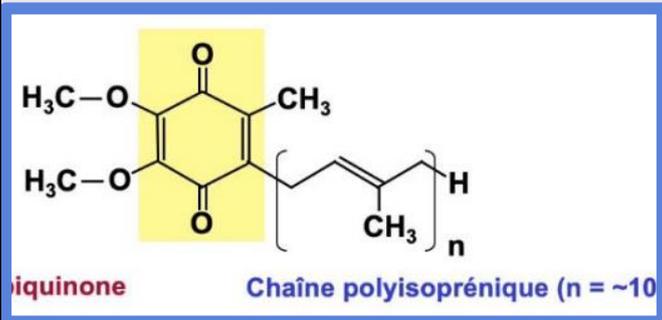


### La Flavine Adénine Dinucléotide (FAD)

- Similaire au FMN
- Dérive de la vitamine B2
- Impliquée dans les réactions d'oxydoréduction par le transport de 2H+
- Structure semblable au FMN avec un groupement Adénosine 5 monophosphate
- **Partie réactionnelle au niveau du noyau de l'isoalloxazine**



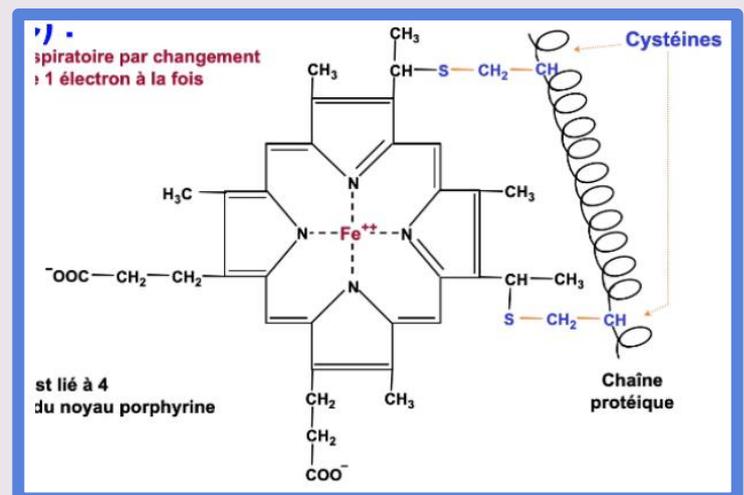
## ○ Coenzymes QUINONIQUES (Coenzyme Q /Ubiquinone)



- Liposoluble
- Synthétisé par toutes les cellules (pas apporté par une vitamine)
- Participe au transfert de 2 électrons
- Structure Benzoquinonique substituée ayant une chaîne latérale isoprénique
- Nombre d'unité d'isoprènes peut varier et dans le cas de l'ubiquinone il y a des chaînes isopréniques qui passe d'une forme oxydée à une forme réduite (et vice-versa, réversible)

## ○ Coenzymes HEMATINIQUES (Cytochrome C)

- Fait partie de la famille des métallo porphyrine
- Transporteur d'électrons de la CRM par changement de valence de l'atome de Fer
- Passe d'un état réduit  $Fe^{2+}$  à un état oxydé  $Fe^{3+}$  (ici le réduit n'a pas de  $H^+$  mais a un  $e^-$  en plus vu que la charge positive ( $Fe^{2+}$ ) est inférieure à  $Fe^{3+}$ )
- Transporte 1 électron à la fois ( $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$ )
- L'atome de Fer est lié à 4 atomes d'azote du noyau porphyrine



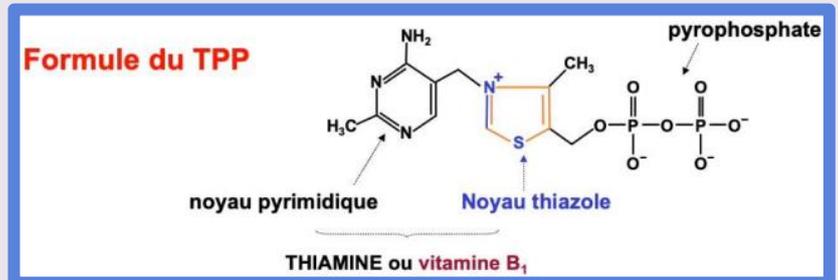
*On a fini avec les coenzymes de réactions d'oxydo-réductions champion ! C'est la dernière ligne droite !*

## 2. Coenzymes de réactions de transfert du groupement *Tout Chat Part Bientôt, Au revoir <3 (encore un mémo pété de MN)*

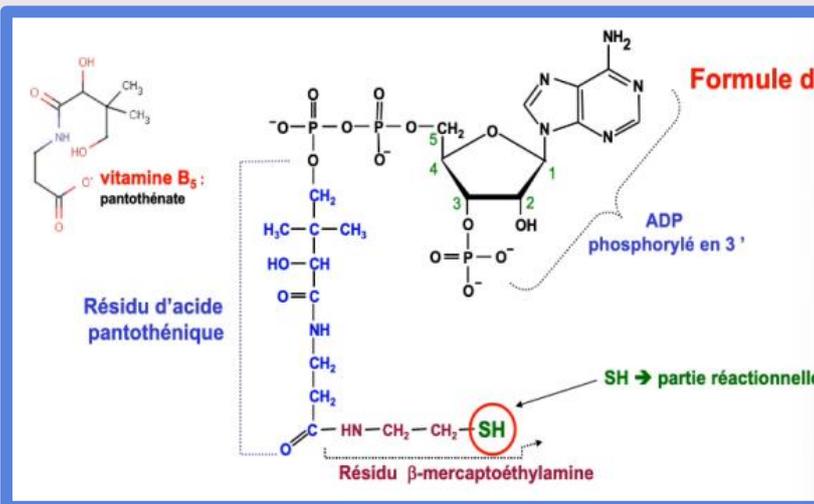
1. Thiamine PyroPhosphate (TPP)
2. Coenzyme A (CoA)
3. Pyridoxal Phosphate
4. Biotine
5. L'acide Lipoïque

# Thiamine PyroPhosphate (TPP)

- Provient de la vitamine **B1**
- TPP = Noyau pyrimidique + noyau thiazole + groupement pyrophosphate
- Participe au transfert de groupements **acyls** (*Le groupe acyle = RCO-* donc si on le transfère on enlève un carbone → *Décarboxylation*)
- Impliquée dans les réactions de décarboxylation oxydative des acides α-cétoniques
- C'est donc un **coenzyme des décarboxylases**
- Solidement fixée à l'apoenzyme
- **Partie réactionnelle -> noyau thiazole**



# Coenzyme A (CoA)

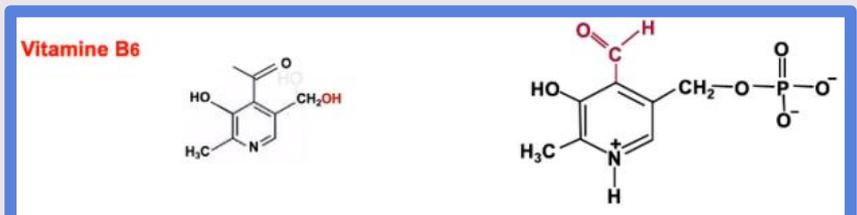


- Provient du panthothénate, vitamine **B5**
- Transporteur de groupements **acyls** et **acétyls**
- CoA = ADP phosphorylé en 3' + 1 groupement pyrophosphate + 1 acide pantothénique qui porte un résidu de β-mercaptoéthylamine
- **Partie réactionnelle : thiol (SH) porté par le résidu β-mercaptoéthylamine (je retenais Coenzyme A ↔ β-mercaptoéthylamine)**

- Grâce au groupement Thiol, le CoA peut former des liaisons thioester avec les AG  
=> C'est une réaction qui demande de l'énergie fournie par hydrolyse de l'ATP

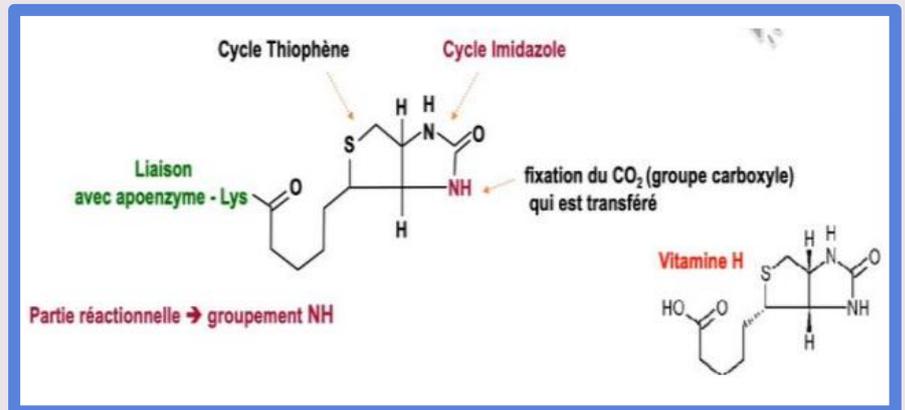
# Pyridoxal Phosphate

- Provenant du pyridoxamine ou vitamine **B6**
- Coenzyme des **transférases**, mais aussi **décarboxylases**
- Intervient dans le métabolisme des Aa
- **Partie réactionnelle : fonction aldéhyde sur le C4**



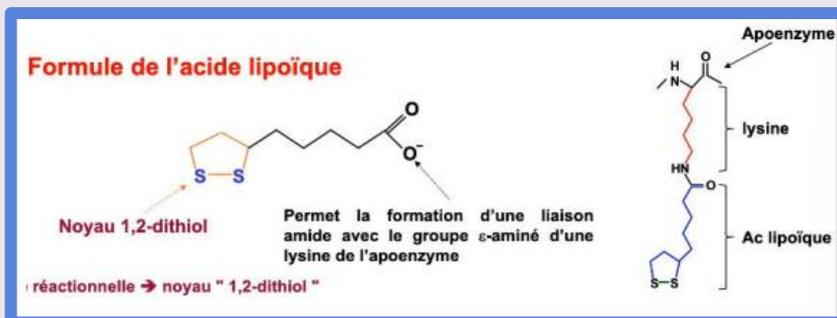
# Biotine

- Provient de la vitamine **H**
- Coenzyme des **carboxylases**
- Participent à des réactions d'isomérisation
- Transport de groupements méthyles et réduction de radicaux formyls ou hydroxyméthyls
- **Partie réactionnelle : groupement NH de l'imidazole qui permet la fixation du groupe carboxyle ensuite transféré à une autre molécule.**



- Structure : cycle de Thiophène + un cycle d'imidazole + une partie qui lui permet de s'associer avec la lysine portée par l'apoenzyme de façon être fixée de façon stable à l'apoenzyme

# L'acide Lipoïque



- Coenzyme qui participe aux réactions de **décarboxylation oxydative** des acides α-cétoniques
- **Intervient immédiatement après le coenzyme TPP** (*tsais le premier coenzyme qu'on a vu*) en acceptant l'aldéhyde généré par le TPP
- Coenzyme solidement fixé à

l'apoenzyme grâce à la terminaison COO qui permet la formation d'une liaison amide avec la lysine de l'apoenzyme

- **La partie réactionnelle est constituée du noyau 1,2-dithiol**

~Finito PiPo~

*Voilà la fiche est complète, la seule partie qui est ajoutée comparé à la TTR est la partie des coenzymes de transfert et d'oxydo-réduction, je sais, c'est pas fun à apprendre. Mais concentrez vous sur la partie réactionnelle et bonus si vous savez ce qu'ils font et comment ils sont constitués.*

*J'espère que cette fiche est claire / limpide, j'ai rajouté mes explications, je pense faire une fiche sans les explications pour avoir une fiche synthétique (je sais pas trop) : dites-moi ce que vous pensez. Dites-vous que les explications vous les lisez qu'une fois, vous les comprenez et basta la 3<sup>e</sup> fois, 4<sup>e</sup> fois etc etc*

*Je sais que mes fiches sont longues mais j'espace beaucoup pour que ça soit plus agréable à lire, normalement vous passez pas beaucoup de temps sur une fiche : encore une fois dites le moi !*

*Dédi à Baptiste, dédi à Luna, dédi à Nilay, dédi à Adel, dédi à Timéo, dédi à Luigi, dédi à Safa et Jb keur*

*Dédi à mes D1 prefs : Pauline, Anna, Hadrien, Théo, Thomas, Nathan*

*Dédi à toi P1, si t'as une question sur le cours ou l'année en général n'hésite pas je m'appelle Minh Nhat Nguyen aka TransaMinhNhase <3 <3*

## Quelques QCMs pour s'entraîner les loulous ?

QCM 1 : A propos des généralités sur l'enzymologie, donnez la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A) Les ribozymes sont des protéines
- B) Les enzymes agissent à de fortes concentrations
- C) Les enzymes se retrouvent changées à la fin d'une réaction car elles sont transformées par le substrat
- D) La cinétique enzymatique décrit le nombre de fois que l'enzyme peut catalyser une réaction
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : A propos de la catalyse, donnez la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A) L'énergie d'activation est l'énergie qu'il faut fournir pour activer le catalyseur, en l'occurrence l'enzyme
- B) Un catalyseur permet l'abaissement de l'énergie d'activation pour que la réaction se fasse plus vite
- C) L'état de transition est l'état énergétique maximal dans lesquels les substrats A et B subissent des modifications structurelles pour être transformés en produits C et D
- D) Un catalyseur est l'élément qui permet de provoquer la réaction chimique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : A propos de la structure protéique des enzymes, donnez la (les) proposition(s) exacte(s) :

- A) La complémentarité enzyme-substrat est déterminée par le site actif
- B) Le site actif se compose de plusieurs acides nucléiques
- C) L'eau est toujours exclue du site actif
- D) Les liaisons intervenant dans la formation du complexe ES sont de fort niveau énergétique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : A propos des cofacteurs et coenzymes, indiquez la (les) proposition(s) exactes

- A) Les coenzymes sont des cofacteurs indispensables à la catalyse enzymatique
- B) Les coenzymes stochiométriques ont une concentration voisine de celle de l'enzyme
- C) Les coenzymes catalytiques ont une liaison faible de type électrostatique avec l'enzyme
- D) Le NADP<sup>+</sup> est un coenzyme stochiométrique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : A propos des cofacteurs et coenzymes, indiquez la (les) proposition(s) exactes

- A) La Thiamine pyrophosphate dérive de la vitamine B6
- B) Le FAD est un coenzyme libre
- C) La vitamine H est la riboflavine
- D) La biotine dérive de la vitamine B4
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

## CORRECTION

QCM 1 : E

- A) FAUX ATTENTION ++ ribozymes = ARN ++
- B) FAUX A de très faibles concentrations
- C) FAUX item wtf faites vous confiance
- D) FAUX pareil item wtf cinétique = vitesse de réaction
- E) VRAI

QCM 2 : BC

- A) FAUX c'est la barrière énergétique à franchir pour que la réaction ait lieu
- B) VRAI ++
- C) VRAI ++
- D) FAUX +++++ UN CATALYSEUR NE PROVOQUE JAMAIS DE REACTIONS

CHIMIQUES

- E) FAUX

QCM 3 : A

- A) VRAI
- B) FAUX wtf, le site actif est composé d'ACIDES AMINES
- C) FAUX l'eau n'est pas exclue si elle est substrat !
- D) FAUX de faible niveau énergétique attention ++
- E) FAUX

QCM 4 : AD

A) VRAI

B) FAUX les coenzymes stochiométriques ont une concentration de même ordre que celle du substrat

C) Faux les coenzymes catalytiques ont une liaison forte de type covalente ++

D) VRAI

E) FAUX

QCM 5 : E

A) FAUX Thiamine pyrophosphate dérive de la vitamine B1

B) FAUX FAD = coenzyme Catalytique/ Prosthétique/ Liés

C) FAUX Riboflavine dérive de la vitamine B2

D) FAUX Biotine dérive de la vitamine H et il y a pas de vitamine B4 grrrrr

E) VRAI