

Structure des enzymes

I. Nature protéiques :

- Les enzymes sont des protéines ayant des structures primaires, secondaires, tertiaires et quaternaires ;
- Certains enzymes nécessitent pour être actifs à la fois d'une coenzyme et un ou plusieurs ions métalliques ;
- Les coenzymes ou ions métalliques liés par liaison covalente à la protéine enzymatique est appelé groupement prosthétique, l'apoenzyme est responsable de la spécificité :
Exemple de pyridoxal phosphate la transamination et la décarboxylation ont le même coenzyme le pyridoxal phosphate et grâce à l'apoenzyme qu'il y a une différence à la réaction catalysée.

II. Les cofacteurs Page facebook ; Domaine SNV : Biologie, Agronomie, Science Alimentaire, Ecologie

- *Ions métalliques :*
un nombre considérable d'enzymes requièrent un oligoélément fourni par l'alimentation à la cellule où fonctionnent les métallo-enzymes exemple le Zinc Zn de nombreuses enzymes métalliques : le carboxypeptidase, l'anhydrase carbonique, la phosphatase alcaline, cet ion intervient dans la catalyse et dans la reconnaissance de substrat il joue aussi un rôle de structuration en stabilisant la conformation spatiale efficace de site actif.
- *Groupement prosthétique ou coenzyme vrais*
Ce sont des molécules organiques de petite taille et de nature non protéique fortement liées au site actif de l'enzyme, souvent par des liaisons covalentes, leur présence est indispensable de l'activité catalytique un bon exemple :

Flavine : liée qu'enzyme d'oxydoréduction

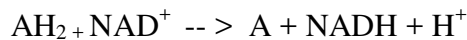
FAD dérivé de vitamine B₂, liée à la carboxylase, dérivé de la biotine

Pyridoxal phosphate liée aux enzymes du métabolisme de l'acide aminé, il dérive de la vitamine B₆.

Dans tous les cas fait partie intégrante du mécanisme catalytique et l'on trouve régénéré à la fin de la réaction.

- *Coenzyme mobile ou cosubstrat :*

Cette deuxième catégorie ne mérite pas vraiment la non de coenzyme mais plutôt de cosubstrat, capable de se fixer réversiblement au site actif de l'enzyme l'exemple le plus représentant : est fourni par les dérivé du nicotinamide (NAD et NADP) qui entrent dans les réaction d'oxydoréduction de métabolisme des glucide et lipides, il permet le Transfert de hydrogène et électron d'un substrat, qui sera oxydé ; à un autre qui sera réduit



III. Enzymes monomérique et polymérique :

- **Structure monomérique**

Constitue d'une seule chaîne polypeptidique, il s'agit le plus souvent d'enzyme secret par la cellule, exemple de ribonucléase pancréatique et de chymotrypsine.

- **Structure polymérique**

Constitue de plusieurs chaînes polypeptidique des sous unités identique ou différentes on parle alors de protomères ou monomère formant un oligomère de 2 à 12,

Lorsque les protomères sont identique chaque un port un site actif, la dissociation d'une enzyme oligomérique en protomères naissécite la réputer des liaisons inter-protomérique qui sont de liaison non covalent le plus souvent cette dissociation s'accompagne d'une perte de l'activité catalytique.

La grande majorité des enzymes oligomériques sont endocellulaire, les enzymes secrétés par la cellule sont le plus souvent monomérique.

Exemple d'enzyme oligomérique :

Hémoglobine : est constituée de quatre chaînes polypeptidique et de quatre groupement prosthétiques hémenique dans les quel les atomes de ferre sont a l'état ferreux c'est un tétramère composé de deux chaînes polypeptidique l'hémoglobine est un modèle instructif pour l'étude de la fonction de nombreuse protéine régulatrice oligomérique.

La propriété particulière de la molécule de hémoglobine qu'il à ronde efficace comme transporteur d'oxygène devient évidant lorsque l'on compare les courbes de saturation de

l'oxygène de la myoglobine et de l'hémoglobine : la courbe de saturation montre clairement que la myoglobine possède une grande affinité pour l'oxygène, c'est une courbe hyperbolique, à l'inverse, l'affinité de l'hémoglobine pour la fixation de l'oxygène est très faible et la courbe de saturation est une sigmoïde

L'affinité pour l'oxygène de chaque sous-unité va dépendre donc de la présence de l'oxygène sur la sous-unité voisine, une fois qu'une première sous-unité fixe l'oxygène elle communique cette information à la sous-unité restante grâce à l'interaction des interfaces des sous-unités ce qui implique une modification de la conformation de l'hémoglobine qui se produit quand l'oxygène se fixe.

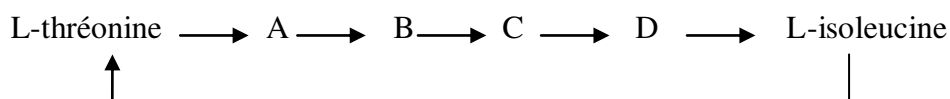
Cette communication est le résultat d'interaction coopérative, la liaison d'une molécule O_2 augmentant la probabilité qu'une O_2 suivante se trouve liée par la sous-unité restante on dit que l'hémoglobine possède une coopérativité positive.

La courbe sigmoïde de fixation est caractéristique dans la liaison coopérative positive, il y a d'autres interactions des sous-unités dans les protéines oligomériques. Dans la coopérativité positive, la liaison d'une molécule diminue la probabilité qu'une autre molécule de substrat se lie à la sous-unité restante.

IV. Exemple d'enzyme allostérique

Se sont des enzymes régulatrices de métabolisme, elles font intervenir la liaison réversible non covalente d'un métabolite régulateur appelé **modulateur** c-à-d que l'enzyme allostérique prend une autre forme ou conformation suite de la liaison de modulateur.

Le rétrocontrôle ou rétro-inhibition de la conversion de la L-thréonine en L-isoleucine chez la bactérie par une séquence de cinq enzymes.



E_1 : thréonine déshydratase c'est une enzyme allostérique

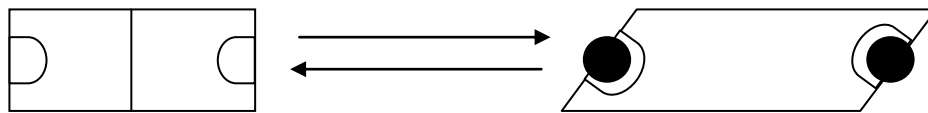
E_2, E_3, E_4, E_5 ne sont pas des enzymes allostériques, l'enzyme E_1 est inhibé spécifiquement de façon allostérique par la L-isoleucine, produit terminale de la séquence mais en aucun cas des quatre intermédiaires de A à B,

Différences entre enzyme allostérique et autre enzyme régulateur

Différences structurale : en plus de site actif (catalytique) les enzymes allostériques ont un site régulateur au quel se lie le modulateur.

De même que le site actif d'une enzyme est spécifique de leur substrat le site allostérique est spécifique de modulateur,

Les enzymes qui possèdent plusieurs modulateurs ont un site de fixation pour chacun, les modulateurs des enzymes allostériques peuvent avoir soit un rôle activateur ou inhibiteur.



quand le substrat joue le rôle de modulateur on dit que l'enzyme est **homotrope**, quand le substrat est différent de modulateur on dit que l'enzyme est **heterotrope**.

les enzymes allostériques sont en générale les enzymes les plus grosses que les autres enzymes simples, la plupart sont plus complexes, on a au moins deux sous-unités.

Exemple aspartate transcarboxylase qui catalyse la première réaction de biosynthèse des nucléotides pyrimidiques, organisée en sous-unité **catalytique et régulatrice**

Autre différence entre les enzymes non régulées et les enzymes allostériques porte sur la cinétique, pour les enzymes allostériques la réaction V_{ini} en fonction $[S]$ n'obéissent pas à une cinétique de Michaelis-Menten normale, ainsi pour certains si on trace V_{ini} en fonction de $[S]$ on obtient **une courbe sigmoïde**.

Courbe sigmoïde obtenu pour un enzyme homotrope où le substrat sert à / ou un modulateur positif.

La fixation de substrat sur l'enzyme augment l'affinité de l'enzyme pour le substrat c'est qu'on appelle effet coopératif Effet de substrat par rapport à sa fixation à l'oppose l'effet allostérique qu'est un phénomène hétérotrope « effet d'un modulateur sur la fixation de substrat » soit modulateur activateur ; soit inhibiteur lorsque un effecteur se fixe sur un site allostérique il ensuit une légère modification de la conformation de l'enzyme une transition allostérique qui entraîne une modification de la conformation au niveaux de site actif avec augmentation ou diminution de l'affinité d'une enzyme pour un substrat

Une cinétique sigmoïde reflète généralement des interactions coopératives entre des sous unités protéiques en d'autres mots des changements dans la structure d'une sous unité se traduit par le changement des sous unités voisines à la suite d'interaction non covalente à l'interface entre les sous unités.

Il existe deux modèles pour expliquer la cinétique des enzymes allostériques :

- Modèle concerté : (modèle symétrique) de J MONOD et collaborateurs 1965 ;
- Modèle séquentiel par KOSILAND 1966.

L'un et l'autre implique que l'enzyme allostérique a deux conformations extrêmes qui diffèrent par leur structure tertiaire et quaternaire.

Donc il existe deux états de l'enzyme qui sont en équilibre :

Un **état catalytique** (conformation R) a fort affinité pour le substrat et un **état inhibé** (conformation T) tendu à faible affinité pour le substrat

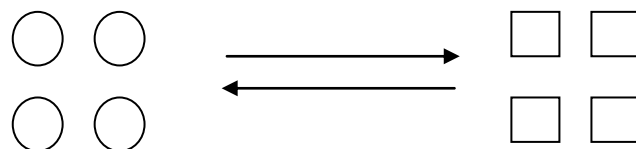
Dans l'état catalytique la forme de l'enzyme, lui permet de se combine au substrat et a l'activateur, dans la forme inhibé seul l'inhibiteur peut se combiné à l'enzyme.

Le passage d'une forme à l'autre donc de T à R au inversement est appelé transition allostérique.

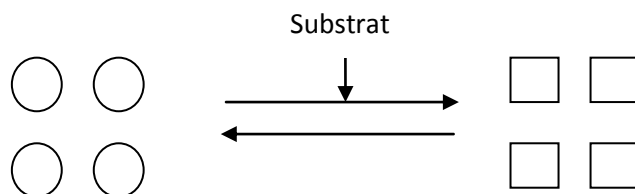
Les ligands (sont des effecteur) lorsqu' ils sont combiné (fixé) stabilisent l'enzyme dans l'état R ou T selon la nature du ligand et ceci déplace l'équilibre dans le sens de l'enzyme stabilisée

Le modèle concerté (modèle de tous ou rien) de J Monod et col 1965

Toutes les sous unité de la molécule d'enzyme sont soit sous la forme active « R » soit sous la forme « T » inactive(T et R étant en équilibre) chaque molécule de substrat qui se lie augment la probabilité de transition allostérique de la forme inactive à la forme active.



EN absence de substrat, l'équilibre est en faveur de la forme T, en présence de substrat l'équilibre est en faveur de la forme R

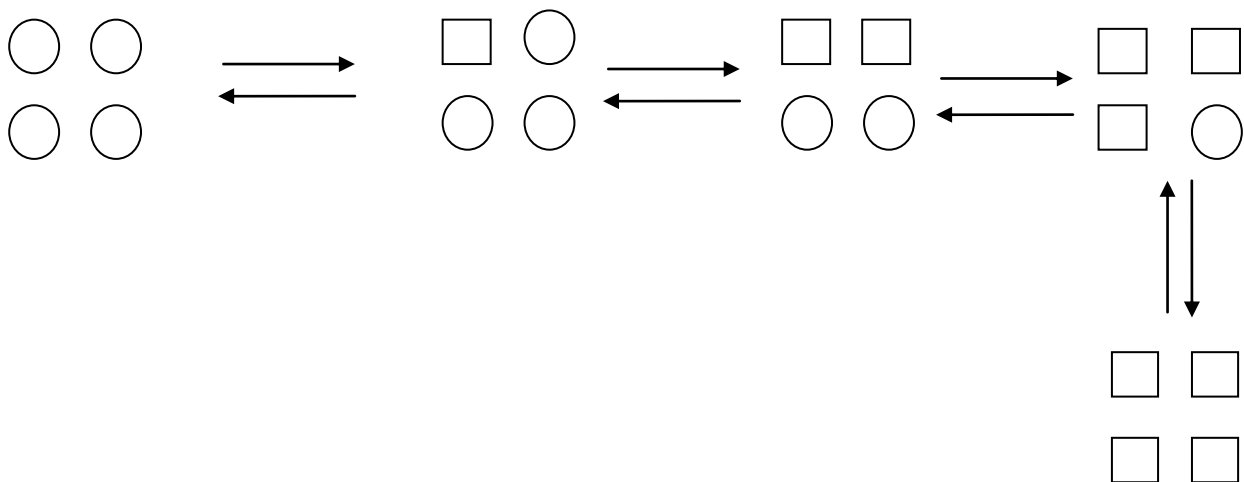


Transition allostérique avec un changement en bloque d'un seul coup

Model séquentiel il y a toujours deux conformation mais les sous unité peuvent passer de la forme R individuellement

En absence de substrat toutes les molécules d'enzyme sont en conformation T

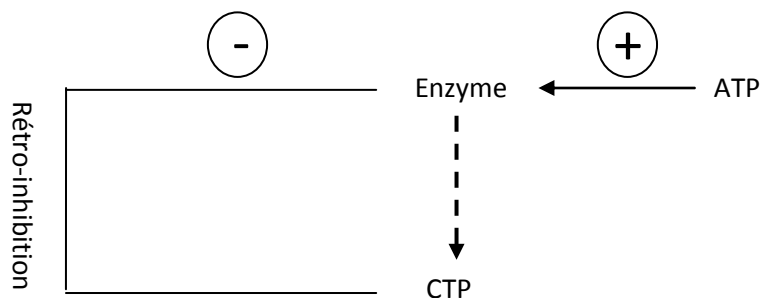
La fixation de la première molécule de substrat induit la transition allostérique $T \rightarrow R$ de la première sous unité) ce qui facilite la transition $T \rightarrow R$ de la sous unité voisine et la fixation d'une deuxième molécule de substrat et ainsi de suite



C / exemple de Aspartat transcarboxylase (ATCase)

Elle catalyse la réaction suivant qui est la première étape de la biosynthèse des nucléotides pyrimidique

Carbanyl-phosphate + L-aspartat



Désensibilisation d'une enzyme allostérique = dissociation de ses protomères (les sous unités catalytiques et régulatrices).

L'enzyme présente deux catégories de site différents la cinétique de l'enzyme active est une sigmoïde alors que l'enzyme désensibilisée présente une cinétique michaelienne

La dissociation de l'enzyme a donc provoqué la perte de la coopérativité et de la sensibilité aux effecteurs allostériques mais l'activité catalytique est conservée, on dit que l'enzyme est désensibilisée.

La courbe hyperbolique V en fonction de $[S]$ est due au protéomère catalytique capable de fixer le substrat et de le transformer (catalyser sa transformation)

Remarque : on peut noter que la rétro-inhibition d'un enzyme peut s'opérer soit par

- inhibition au niveau du site actif, dans ce cas le produit présente une conformation spatiale proche de celle du substrat. Le produit inhibe donc l'enzyme qui catalyse sa formation ce mode de rétro inhibition est en quelque sorte immédiat ;
- inhibition sur site allostérique dans ce cas le produit final présente une conformation différente du substrat initial car occupe un site différent du site actif, ce cas de figure se rencontrera plutôt au niveau des voies métaboliques présentant plusieurs étapes intermédiaires entre le substrat initial et le produit final, ce dernier ne peut donc occuper le site actif de l'enzyme, ce mode de rétro action est d'une certaine manière est dit différé.

V. Système multienzymatique

On appelle poly enzymatique ou encore complexe enzymatique ou encore hétéropolymère, l'association de plusieurs enzymes catalysant des stades successifs d'une voie métabolique exemple de décarboxylation oxydative de l'acide pyruvique en acétyl CoA par le complexe pyruvate déshydrogénase

le complexe de la pyruvate déshydrogénase est localisé dans la mitochondrie des cellules eucaryotes et dans le cytosol des cellules procaryotes la décarboxylation oxydative est une oxydation irréversible par laquelle le groupement carboxyle CO_2 est retiré du pyruvate alors que les deux autres carbones restants deviennent le groupement acétyl CoA.

Le complexe est constitué de multiple copie de chacun des 3 enzymes suivante

- Pyruvate déshydrogénase
- Dihydrolipoyl transférase
- Dihydrolipoyl déshydrogénase

Et les cinq coenzymes

- TPP : thiamin pyrophosphate
- FAD : flavine adénine di nucléotide
- CoA : coenzyme A
- NAD : nicotinamide adénine di nucléotide
- Acide lipoïque /lipoate

Exemple : composition des sous unité du complexe du pyruvate déshydrogénase de E coli

| enzymes | coenzyme | poids moléculaire | nombre de sous unit2 |
|----------|-------------|-------------------|----------------------|
| enzyme 1 | TPP | 96000 | 24 |
| enzyme 2 | lipoate CoA | 65000 | 24 |
| enzyme 3 | FAD , NAD | 56000 | 12 |

ISOENZYMES

Les différentes formes d'hexokinase trouvée dans les tissus de mammifère sont d'une situation exemplaire d'une situation commune dans laquelle la même réaction est catalysée par deux ou plusieurs formes moléculaires différentes d'une enzyme. Ces forme multiples appelées isoenzyme peuvent apparaître dans les même espèces dans les même tissus ou encor dans la même cellule.

Les différentes formes de l'enzyme des isoenzyme par exemple la déshydrogénase diffèrent entre elle par la coenzyme ou dans leur distribution cellulaire par exemple soluble ou liées à des membranes, les isoenzymes ont des séquences en acide aminé similaire mais non identique, l'exemple le plus connu est celui du lactate déshydrogénase (LDH)

Elle à (formes séparable par électrophorèse elle est constitue de 4 chaines polypeptidiques (tétramère) avec des rapport différent de 2 type de polypeptide (chaîne A et chaîne B) qui diffèrent par leur composition et leurs séquences

LDH 4 chaines polypeptidique

Chaines A M : muscle

Chaines B H : heart cœur

Les 5 forms sont

LDH type H4

LDH type MH3

LDH type M2H2

LDH type M3H

LDH type M4

Dans le muscle c'est l'isoenzyme M4 qui prédomine, la lactate déshydrogénase favorise dans ce cas la réduction rapide de faible concentration de l'acide pyruvique en acide lactique, a l'opposé dans le cœur l'isoenzyme H4 prédomine favorise l'oxydation rapide du lactate en pyruvate.

il existe 2 forme différente d'**amylase** : Amylase pancréatique et amylase salivaires

Autre exemple est le cas de la **phosphatase alcaline** qui est partage en 3 isoenzymes :

- placentaire ;
- intestinale ;
- autre dans les différents tissus ;

La **créatine phosphokinase** constitue d'un dimere de deux polypeptides M et B et 3 isoenzymes : MM, MB, BB ;

La transaminases ont deux forme différentes : isoenzyme cytoplasmique et un isoenzyme mitochondrial

