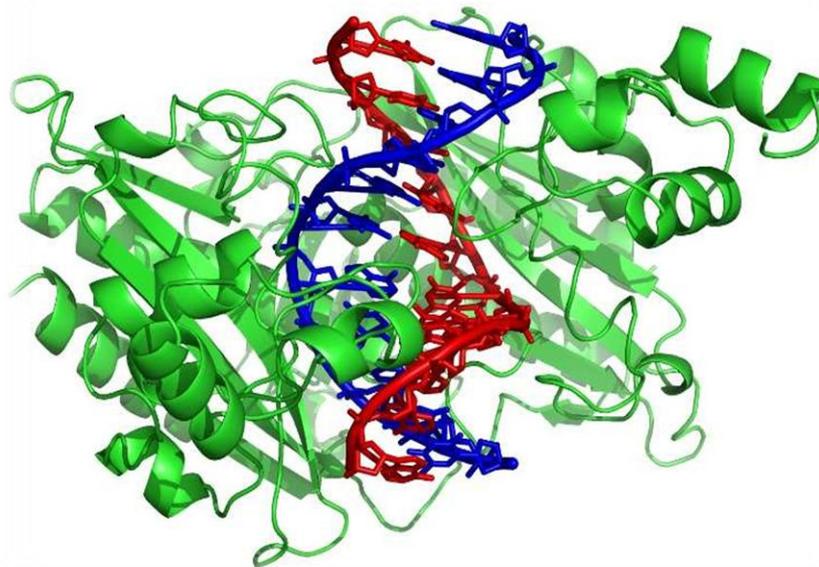




Université de RELIZANE  
Faculté des Sciences et de la Technologie  
Département: Sciences biologiques



# Mécanisme de la catalyse



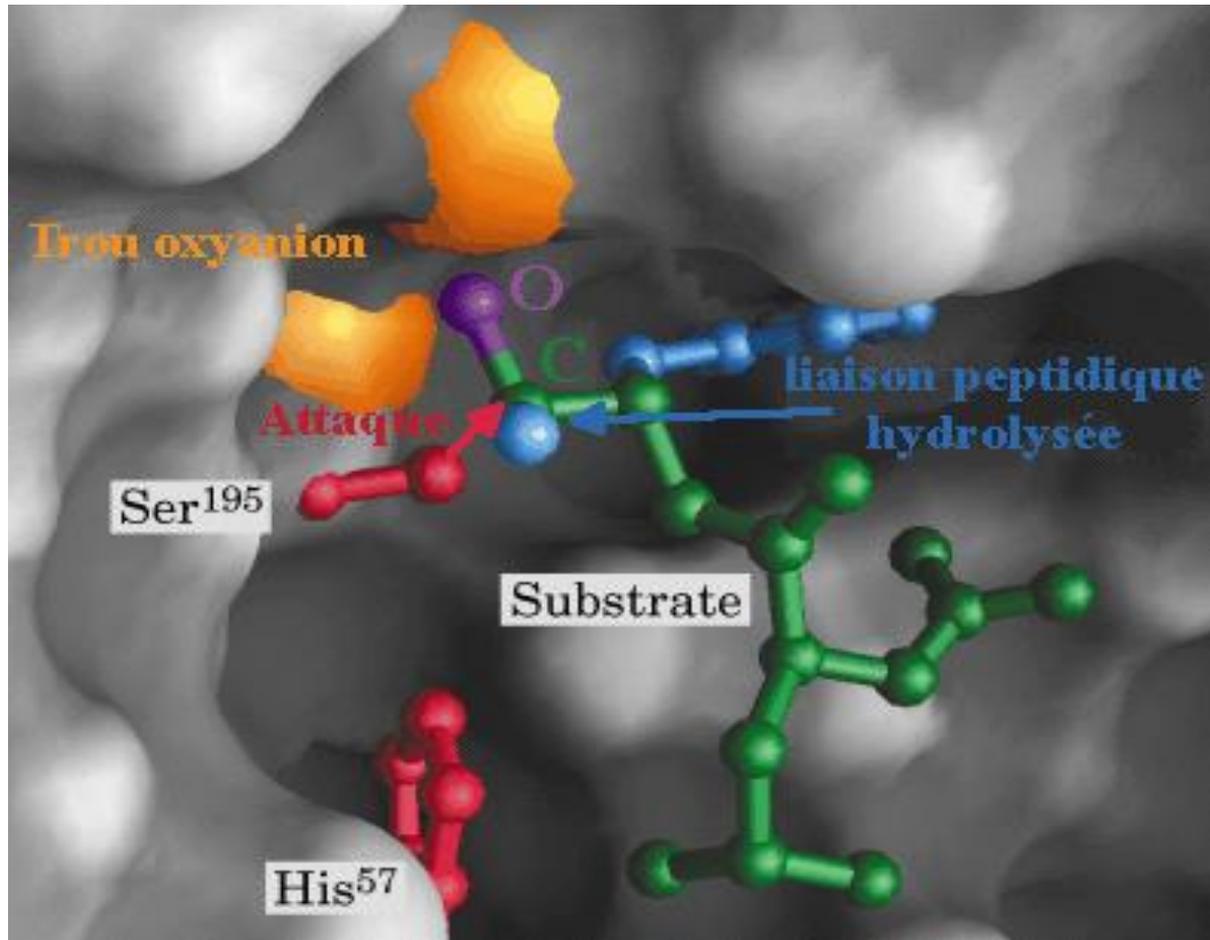
Dr Berzou

*Année universitaire : 2022/2023*

# I. Mécanismes de la catalyse enzymatique

## 1. Introduction

- Une réaction enzymatique est caractérisé par le fait quelle se produit à l'intérieur **d'une poche formée** par l'enzyme est appelé **le site actif**. La molécule lie au site actif est sur laquelle l'enzyme fait la catalyse du substrat en produit.
- Le site actif contient deux zones inséparable pour maintenir une réaction catalytique dont on site :
  - Une zone de fixation
  - Une zone catalytique
- Une autre définition du site actif est donnée qui un ensemble **de groupes de résidus de la protéine** qui entre en **contact avec le substrat** par des liaisons faible pour en assuré la fixation.



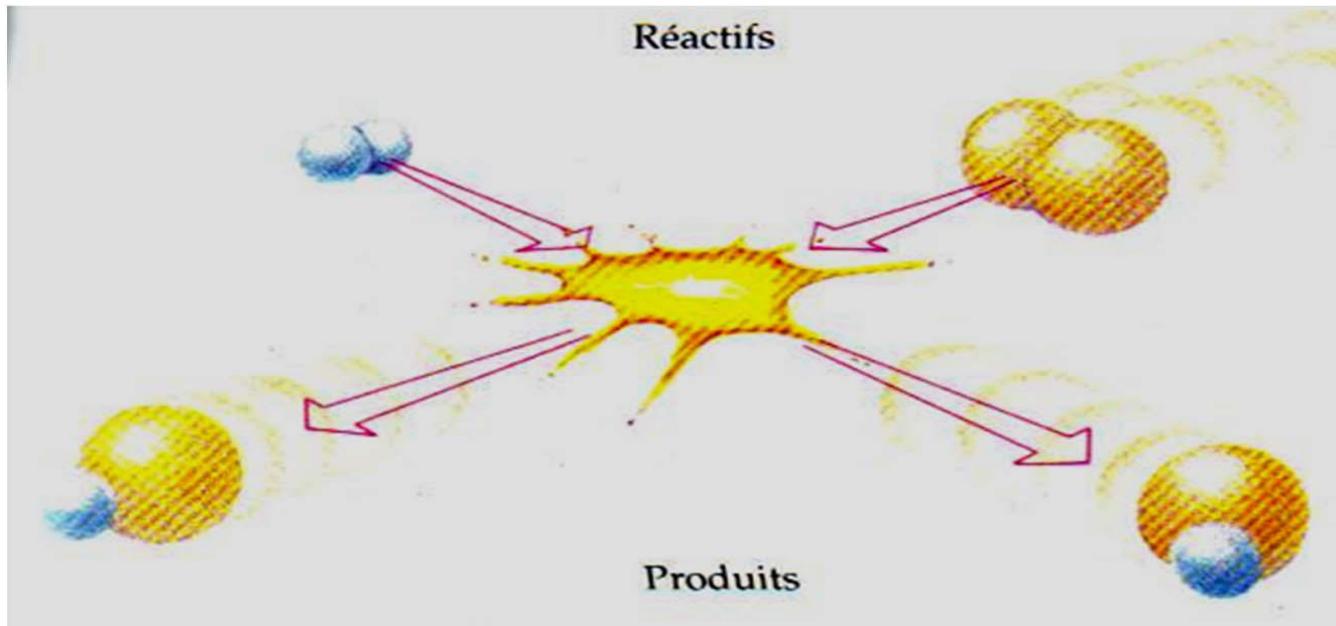
*Enzyme Mechanisms*

# 1-Quelque principe pour expliquer le pouvoir catalytique et la spécificité des enzymes :

- Cette poche est souvent bordée par des chaînes latérales d'acides aminés non polaires,
- Les enzymes sont des catalyseurs puissants capables d'augmenter les vitesses des réactions enzymatiques de  $10^7$  jusqu'à  $10^{14}$
- Les enzymes sont aussi très spécifiques ;
- Les groupements fonctionnels d'enzyme permettent d'abaisser spécifiquement l'énergie d'activation de la réaction sont :
  - Chaînes latérales des acides aminés
  - Ions métalliques
  - Coenzymes

- La formation de complexe enzyme-substrat dépend de même force qui stabilise la structure de l'enzyme ;
- La formation de chaque interaction faible entre l'enzyme et substrat s'accompagne de petite libération d'énergie (une liaison faible fournit l'énergie de 4 à 30 KJ/mol) ;
- L'énergie prévenante des interactions enzyme-substrat est appelée énergie de liaison son rôle :
- D'une part stabilisation du complexe enzyme-substrat,
- Principale source d'énergie libre utilisée par les enzymes pour abaisser l'énergie d'activation des réactions.

- Les interactions faibles entre l'enzyme et le substrat sont optimisé dans l'état de transition: pour catalysé une réaction, l'enzyme doit être complémentaire de l'état de transition de substrat.



État de transition

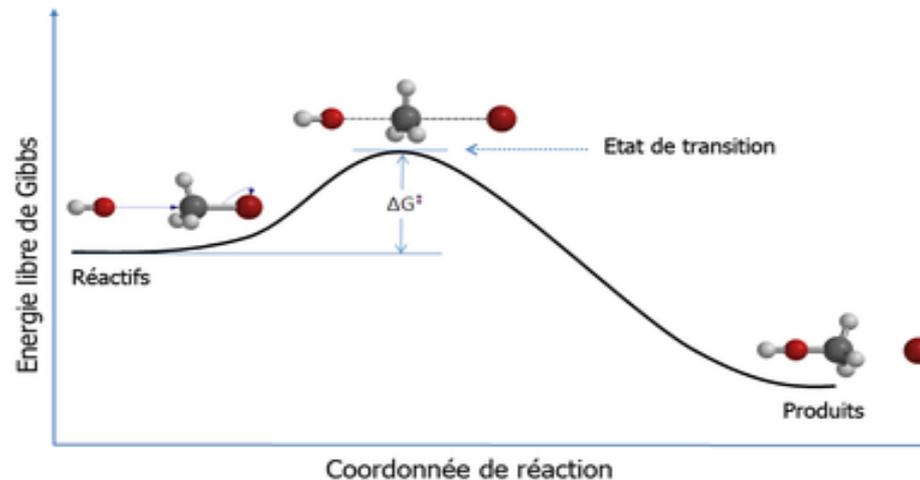
- L'état de transition est un arrangement de liaisons chimiques en train de se former et de se rompre puisque c'est une structure intermédiaire entre celle du substrat dont il est issu et celle du produit qu'il va former.

## ❖ Etat de transition

➤ Les enzymes ont la capacité d'abaisser l'énergie d'activation pour des réactions spécifiques pour que ces réactions puissent se faire à la température normale de la cellule.

### *Question : comment fonction les vrais enzymes*

➤ Des interactions faibles sont formées dans le complexe Enzyme substrat mais la totalité des interactions faibles enzyme-substrat ne se forment que quand le substrat est à l'état de transition ceci implique que l'énergie de liaison libérée par ses interactions permet d'atteindre le sommet de la courbe en cloche sur le diagramme énergétique.



## 2. Des groupements catalytiques spécifiques contribuent à la catalyse

❖ Une fois le substrat lié, différents mécanismes peuvent être employés par l'enzyme pour former ou couper des liaisons en utilisant les groupements fonctionnels qui auront été correctement positionnés, parmi ces mécanismes on trouve :

- La catalyse générale acide-base (transfert d'un proton).
- La catalyse covalente (elle suppose la formation d'une liaison covalente transitoire entre l'enzyme et le substrat).
- La catalyse utilisation des ions métalliques

## II. Modification chimique de site actif :

### 1. Méthodologie générale

- Lorsqu'on modifier un groupement chimique d'une protéine pour interprété le résultat, il faut déterminer d'une part l'effet de traitement sur l'activité catalytique ce qui se traduit par une modification des paramètres cinétiques  $K_m$  et  $K_{cat}$ .
- D'autre part par la nature et la localisation du ou des groupements modifie
- ☐ Pour cela il est nécessaire de procédé à une analyse de la protéine modifié en effectuant :
  - Une analyse globale des acides aminés avant et après la modification ;
  - Une étude de modification spectrale de la protéine ;
  - Une recherche de résidu modifié par un réactif radioactif.

## II. Topologie et identification des enzymes

- Pour décrire avec précision le mécanisme d'action des enzymes, il est nécessaire de connaître sa structure tridimensionnelle, c'est le cas de toutes les protéines mais il est de plus lié la structure à l'activité enzymatique.
- L'étude des sites actifs des enzymes est réalisée par des méthodes indirectes:
  - Soit en modifiant par voie chimique ou génétique certains acides aminés,
  - Soit on utilise pour substrat des analogues variés.

### III. Les modifications chimiques des enzymes

#### 1. Généralité

- Le principe de cette approche est de faire agir un réactif avec l'enzyme de façon à conduire à une modification covalente au niveau de la chaîne latérale d'un ou plusieurs acides aminés.
- L'idéal est de déposer un réactif suffisamment spécifique pour un acide aminé donné, si ce dernier appartient au site actif on peut s'attendre alors à ce que l'activité enzymatique diminue à mesure de la modification et l'analyse cinétique de la variation d'activité peut alors apporter des éléments d'information.
- L'inconvénient de cette méthode est qu'il faut pratiquement concevoir un réactif pour chaque enzyme ou classe d'enzyme.

## 2. Les réactifs spécifiques des groupements fonctionnels de la chaîne latérale des acides aminés :

- La réactivité des chaînes latérales dépend de leur caractère nucléophile, celui-ci est influencé par les conditions expérimentales et spécialement le Ph.
- Liste des réactifs couramment employés pour la modification des résidus

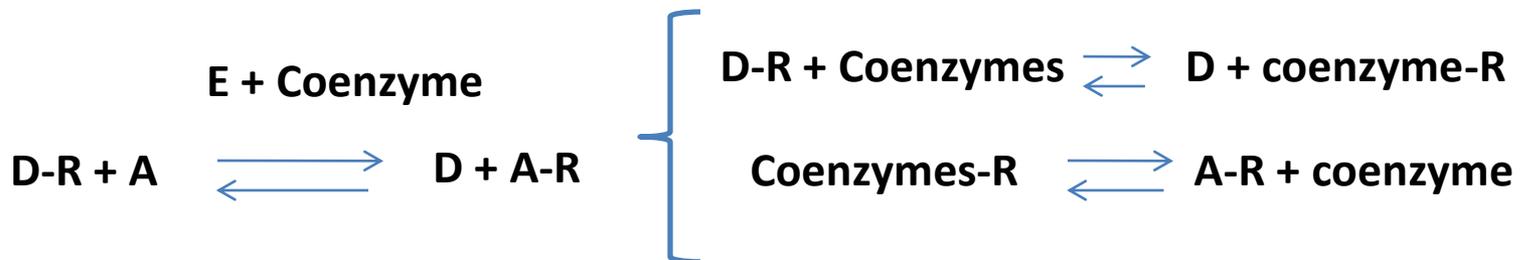
Acide aminée	Réactifs
Asp, Glu	Cardodimides, réactifs de Woodward (N-éthyle-5-phenylsoxagluim-3-sulfonate)
Agr	Butanedione, phenylglyocale
Lys	Trinitrobenzensulfonate, carbamylation parcyanate
His	Diethypnocarbonate
Cys	Iodoacetate
Tyr	tetranitromethan

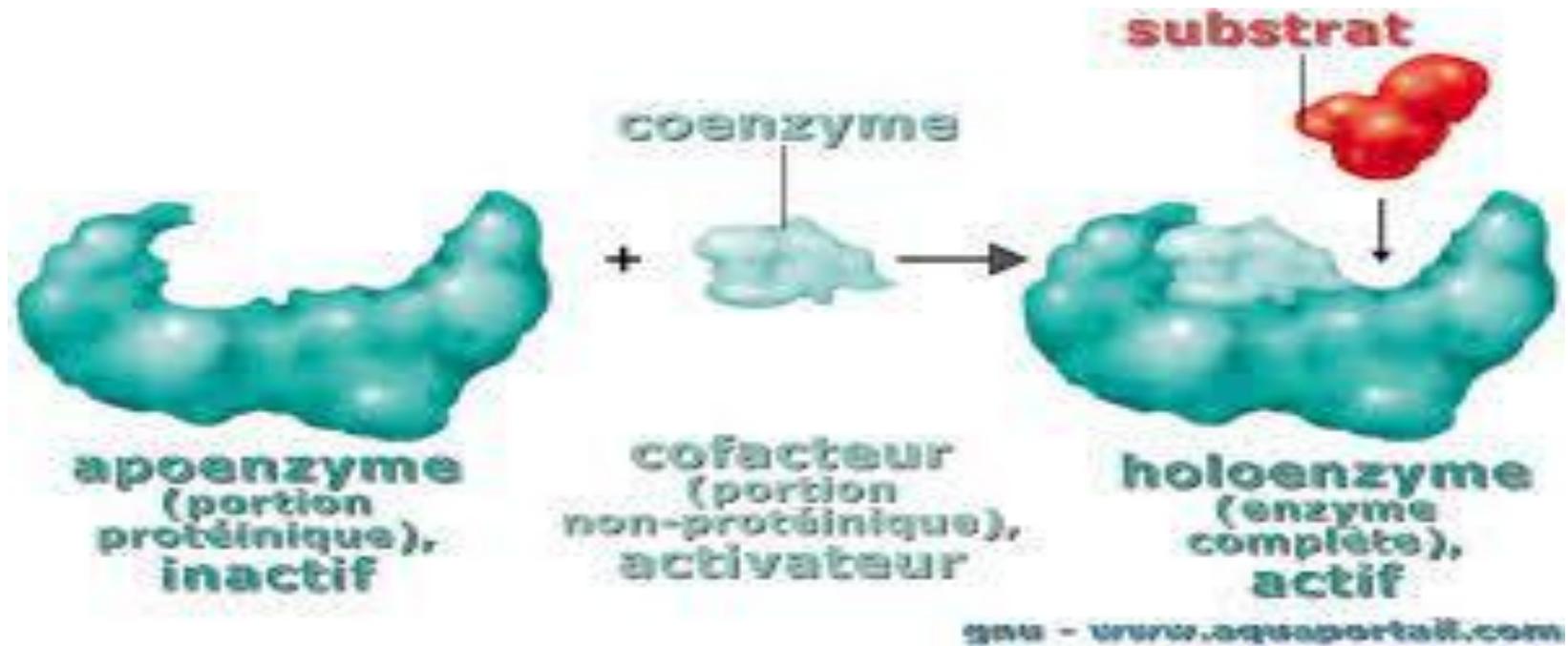
### 3. Aspect cinétique de la modification chimique d'enzyme

➤ C'est l'étude de la modification de l'enzyme à l'aide d'un paramètre physicochimique ou à l'aide d'une mesure d'activité tels que le pH, la température, la force ionique, la pression.

### IV. Mécanisme d'action et classification des coenzymes

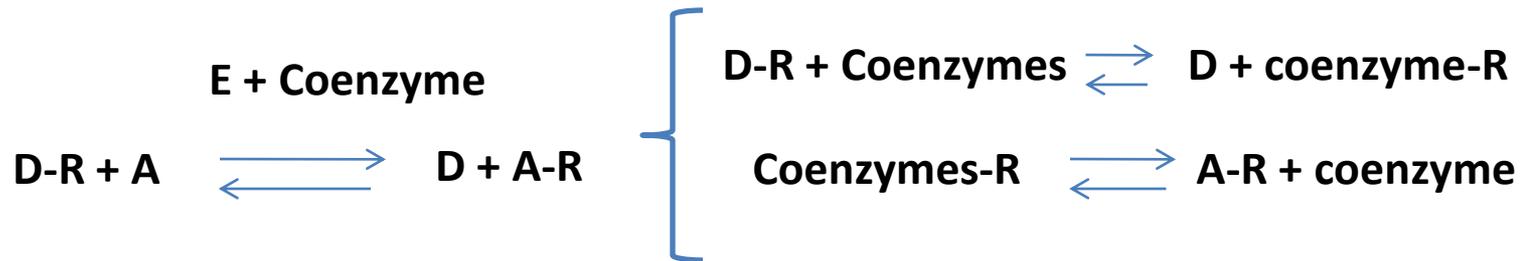
➤ Les coenzymes sont des cofacteurs indispensables à certains enzymes (appelé apoenzymes) un même coenzyme est généralement associé à des enzymes catalysant les réactions de même type mais la spécificité de l'enzyme envers le substrat demeure liée à l'apoprotéine.





➤ La plus part des réactions enzymatiques faisant intervenir un coenzyme qui peuvent se ramener à des réactions de transfert où un radicale R est transféré d'un donneur « D » à un récepteur « A »

➤ Dans ces réactions le coenzyme intervient en soustrayant le radical R puis en le transférant à l'accepteur A.



➤ **Le 1<sup>er</sup> cas** le composé intermédiaire **coenzyme-enzyme** n'est pas libéré; le coenzyme qui est un groupement prosthétique demeure attaché à l'enzyme et intervient comme activateur.

➤ **Le 2<sup>ème</sup> cas** le composé intermédiaire coenzyme-enzyme se dissocie de site actif, le coenzyme qui est alors un substrat intervient comme transporteur.

Coenzyme	Rôle métabolique	Origine vitaminique
<b>Principaux coenzymes activateurs</b>		
Flavine mononucléotide (FMN) Flavine adénine dinucléotide (FAD)	Réaction d'oxydoréduction impliquant le transfert d'un ou de deux électrons	Riboflavine (vitamine B <sub>2</sub> )
Thiamine pyrophosphate (TPP)	Transfert de groupes aldéhyde	Thiamine (vitamine B <sub>1</sub> )
Pyridoxal phosphate (PLP)	Transfert de groupes appartenant à des aminoacides	Pyridoxine (vitamine B <sub>6</sub> )
Biotine	Carboxylations et transfert de carboxyles	Biotine (vitamine H)
Adénosylcobalamine Méthylcobalamine	Réarrangements intramoléculaires et transfert de méthyles	Cobalamine (vitamine B <sub>12</sub> )
Lipoamide	Oxydation d'un groupe hydroxyalkyle	Vitamine A
<i>cis</i> -Rétinal	Vision	Vitamine K
Vitamine K	Carboxylation de résidus glutamate	

## Principaux coenzymes transporteurs

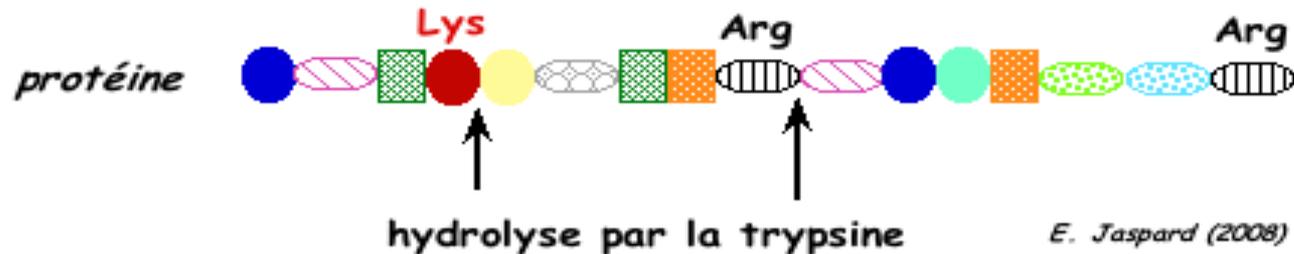
Adénosine triphosphate (ATP)	Transfert de phosphoryles ou de nucléotides	
S-adénosylméthionine	Transfert de méthyles	
Phosphoadénosine phosphosulfate (PAPS)	Transfert de sulfuryles	
Oses nucléotidylés	Transfert de groupes carbohydate	
Alcools cytidylés	Transfert d'alcools dans la synthèse des lipides	
Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD <sup>+</sup> ), Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP <sup>+</sup> )	Réactions d'oxydoréduction impliquant le transfert de deux électrons	Niacine
Coenzyme A	Transfert d'acyles	Pantothénate
Tétrahydrofolate	Transfert de groupes monocarbonés	Folate
Ubiquinone	Transport d'électrons	

## V. Mécanisme d'action de serine protéase :

➤ Les serine protéase forment une superfamille d'enzyme à laquelle appartient avec beaucoup d'autre la **chymotrypsine** la **trypsine**, **élastase**, **subtilisine** elle hydrolyse les **liaisons peptidique** pour donné 2 peptides, les différentes serine protéase hydrolyse les liaisons peptidique du coté carboxylique.

➤ Ainsi les **chymotrypsine** du coté adjacent des acide aminés aromatique (Trp, Phe, Tyr) ;

➤ La **trypsine** du coté carboxyle des acides aminés chargé positivement (Lys,Arg)



➤ **Chymotrypsine** les structure tridimensionnel elle comporte trois chaîne polypeptidique les acides aminé de site actif sont regroupé dans la structure tridimensionnel.

## VI. Activation des enzymes (proenzymes ou zymogènes) :

- Une **proenzyme** ou **zymogène** est un **précurseur protéique** d'une enzyme, c'est-à-dire un composé protidique inactif, dépourvu d'activité enzymatique, mais qui peut donner après activation une enzyme active.
- L'activation des zymogène représente un mécanisme de régulation enzymatique.
- Beaucoup d'enzyme protéolytique (protéases) de l'estomac et de pancréas sont régulées de cette manière.

□ **Exemple** : la chymotrypsine et la trypsine sont initialement synthétisé sous forme chymotrypsinogène et trypsinogène, des coupure spécifiques provoque des changement de conformation qui expose le site actif de l'enzyme



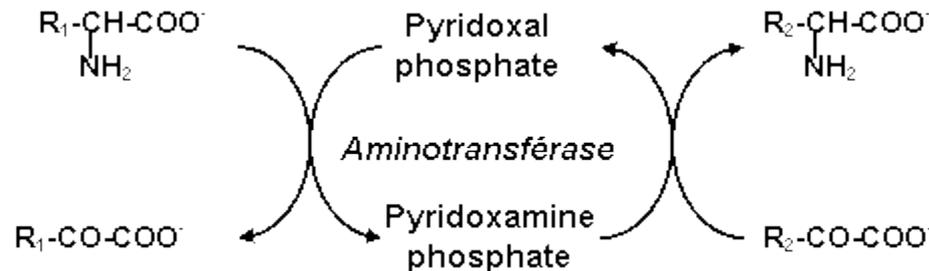
## VII. Mécanisme d'action de pyridoxal phosphate

➤ Le pyridoxal phosphate (**vitamine B6**) est un cofacteur (coenzyme) c-a-d un groupement prosthétique pour nombreux enzyme, dérivé de vitamine B6 et intervenant dans le métabolisme des acides aminés.

- Réaction de transamination
- Réaction de décarboxylation
- Réaction de désamination
- Réaction de racémisation

➤ Le pyridoxal phosphate est lié à l'apoenzyme par une liaison aldimine (-CH=N-) base de Schiff entre le groupement aldéhydique et α-amine de résidu de lysine en absence de substrat et par des liaisons ioniques impliquant le groupement phosphoryle.

### ☐ Exemple 01 réaction de transamination



### ☐ Exemple 03 réaction de décarboxylation

