

UNIVERSITE DE RENNES I

~~~~~

**FACULTE DE MEDECINE**

~~~~~

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE

~~~~~

PCEM 1

**Biochimie Structurale**

**ENZYMES**

**CO-ENZYMES**

~~~~~

Pr Marc Denis

Année Universitaire 2007-2008

ENZYMOLOGIE

1. GENERALITES

1.1. Définitions

- 1.1.1. Enzyme
- 1.1.2. Substrat – Produit
- 1.1.3. Site actif

1.2. Mode d'action

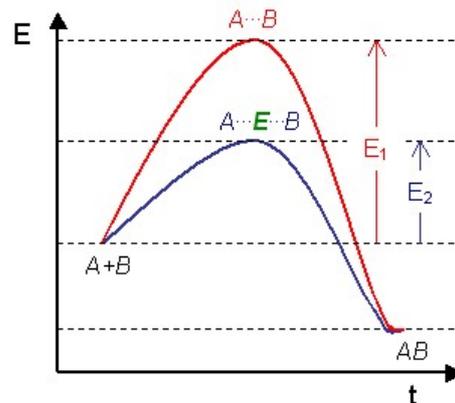
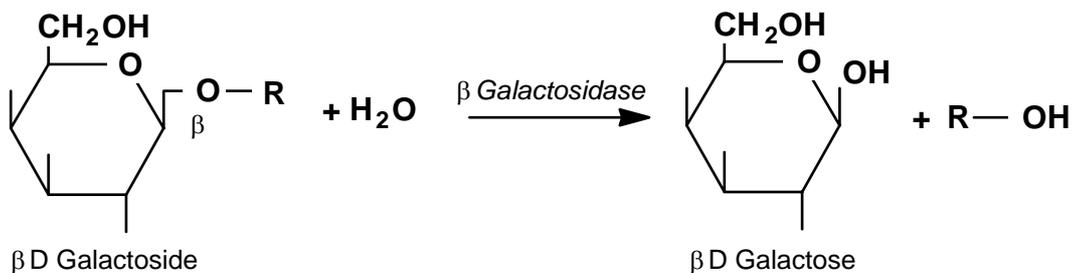


Diagramme d'une réaction catalytique qui montre l'énergie (E) requise à différentes étapes suivant l'axe du temps (t).

1.3. Caractéristiques



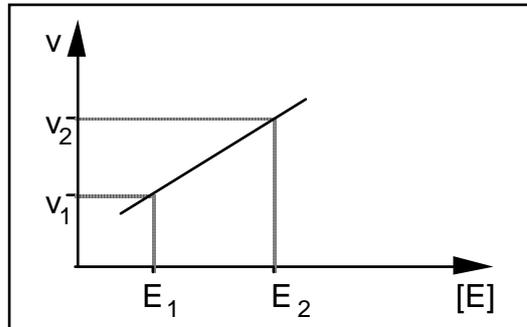
2. CLASSIFICATION DES ENZYMES

- 2.1. Oxydo-réductases – EC1
- 2.2. Transférases – EC2
- 2.3. Hydrolases – EC3
- 2.4. Lyases – EC4
- 2.5. Isomérases – EC5
- 2.6. Ligases (ou synthétases) – EC6

3. CINETIQUE DES REACTIONS ENZYMATIQUES A UN SUBSTRAT - MODELE DE MICHAELIS

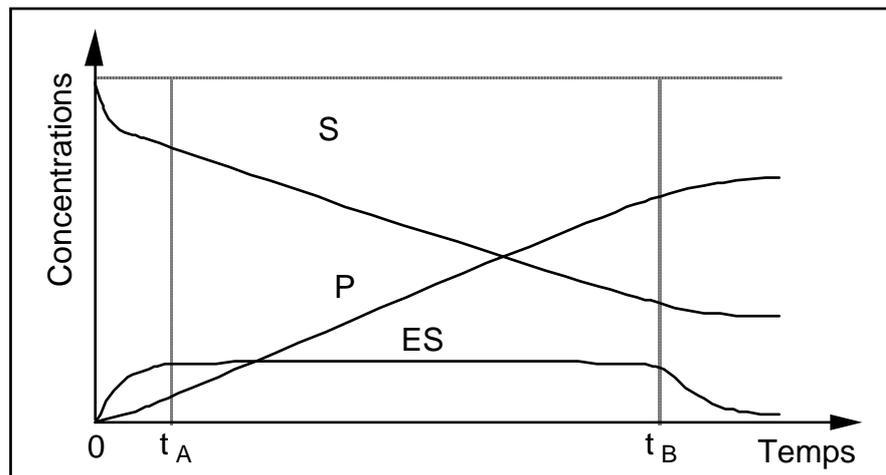
3.1. Généralités

3.1.1. Influence de la concentration en enzyme

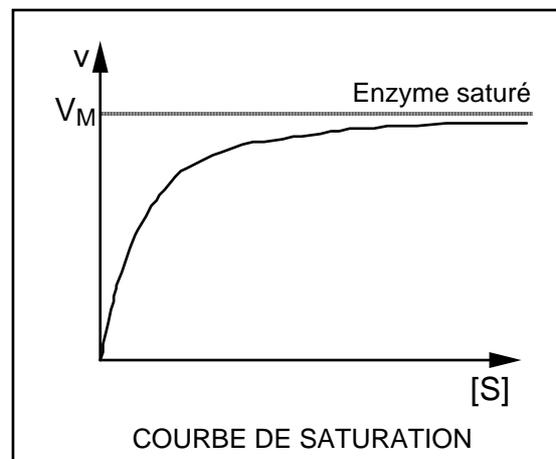


3.1.2. Influence de la concentration en substrat

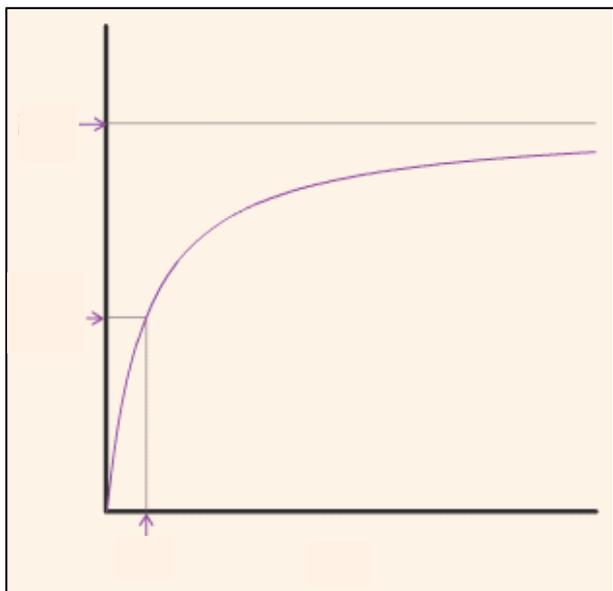
a) Variation de [S], [P] et [ES] au cours du temps



b) Variation de la vitesse en fonction de [S]



3.2 . Aspect théorique – Equation de Michaelis



$$v = \frac{V_M [S]}{[S] + K_M}$$

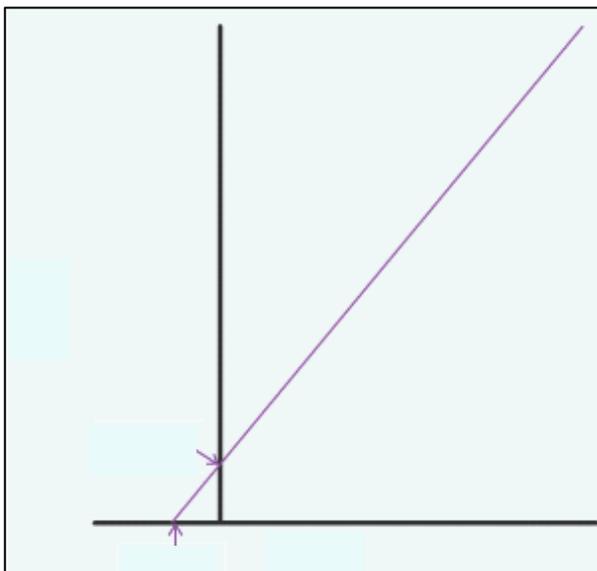
3.3. Signification des paramètres cinétiques

3.3.1 Constante de Michaelis K_M

ENZYME	SUBSTRAT	CONCENTRATION (μM)	K_M (μM)
Glucose phosphate isomérase	Glucose-6-phosphate	450	700
Aldolase	Fructose 1,6-diphosphate	32	100
Triose phosphate isomérase	Glycéraldéhyde-3-phosphate	3	460
Glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase	Glycéraldéhyde-3-phosphate	3	70
Phosphoglycérate kinase	3-Phosphoglycérate	60	1200

3.3.2 Vitesse maximale V_M

3.4. Détermination des paramètres cinétiques



$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_M} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_M}$$

Représentation de Lineweaver et Burk

3.5. Activité enzymatique

3.5.1. Définitions et unités

3.5.2. Activité spécifique

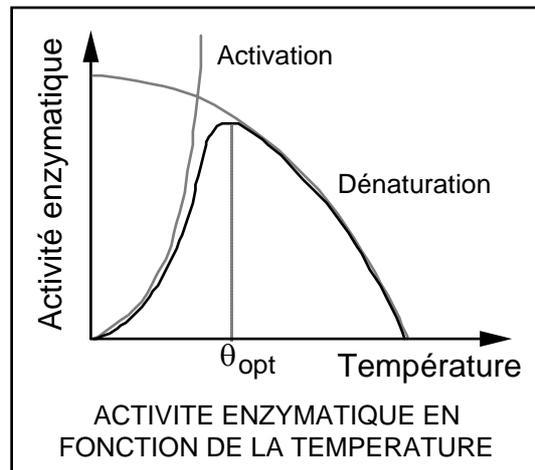
4. EFFECTEURS DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

4.1. Influence de la température

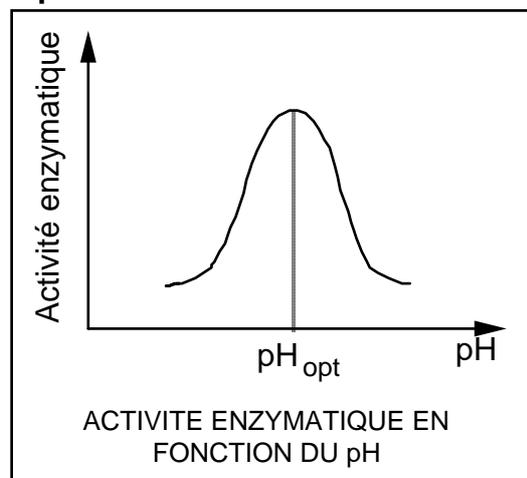
4.1.1. Effet de la température sur la vitesse

4.1.2. Inactivation thermique des enzymes

4.1.3. Résultante des deux effets



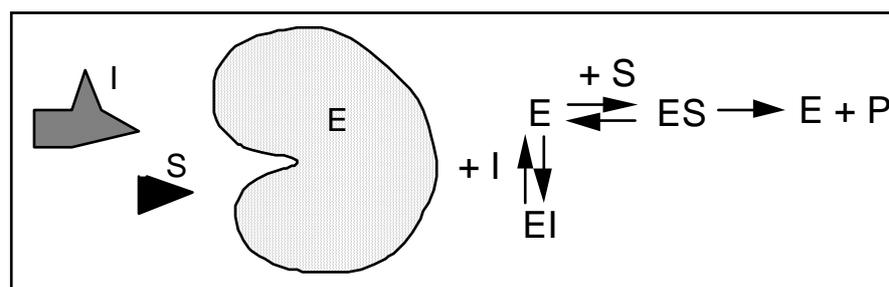
4.2. INFLUENCE DU pH



4.3. INFLUENCE DES IONS METALLIQUES

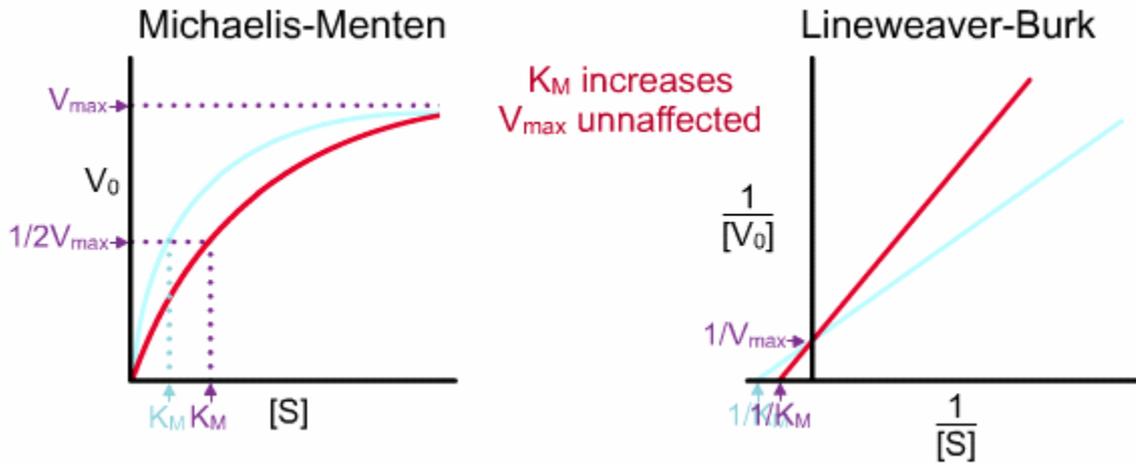
4.4. INHIBITEURS DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

4.4.1. Inhibition compétitive



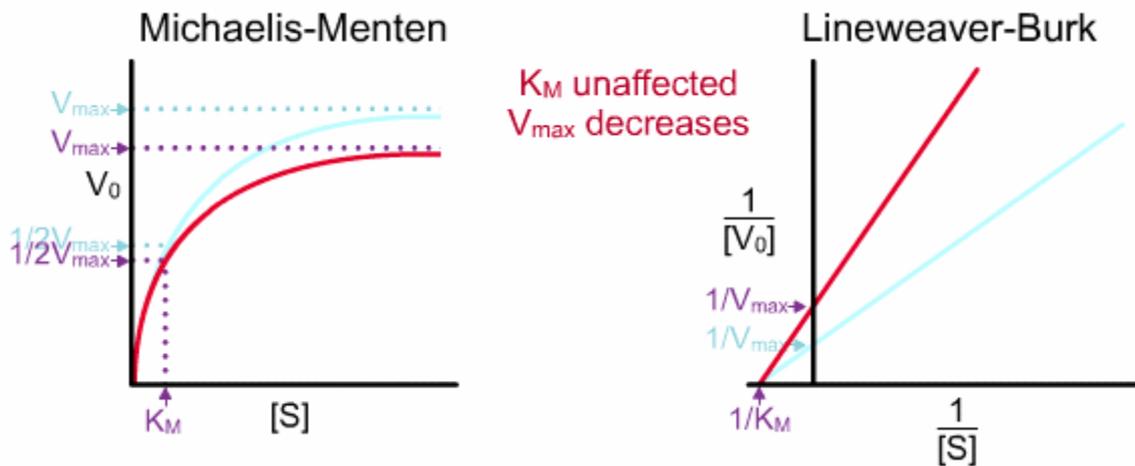
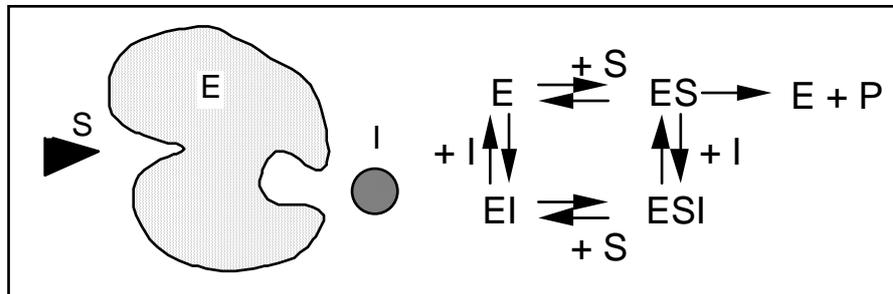
$$v = \frac{V_M [S]}{[S] + K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

$$K'_M = K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$



$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_M} + \frac{K_M}{V_M [S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$$

4.4.2. Inhibition non compétitive simple

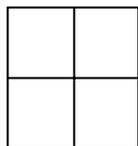
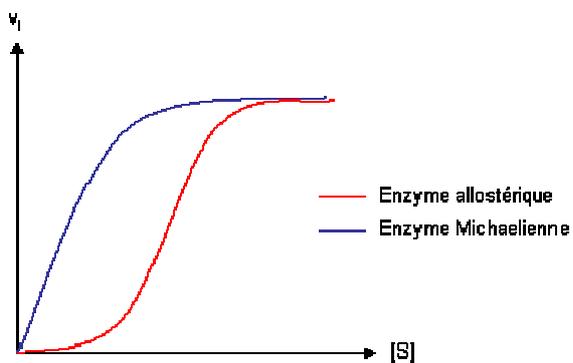


$$v = \frac{V_M [S]}{(K_M + [S]) \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)} \qquad V'_M = \frac{V_M}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$$

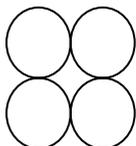
$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_M} \left\{ \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) \left(1 + \frac{K_M}{[S]}\right) \right\}$$

4.4.3. Autres types d'inhibitions

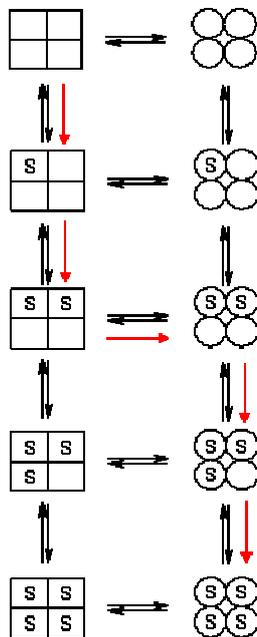
4.5. Modèle allostérique



Forme

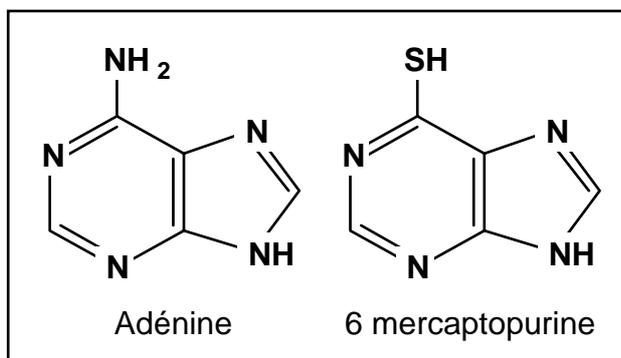
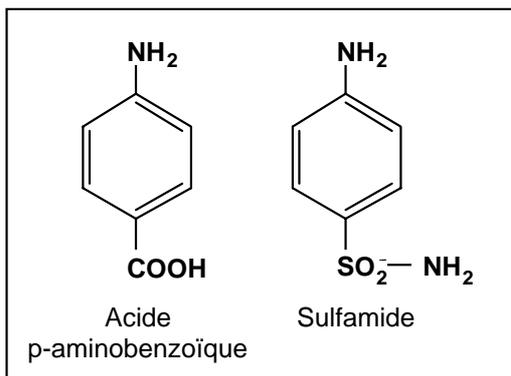


Forme R



→ chemin le plus probable

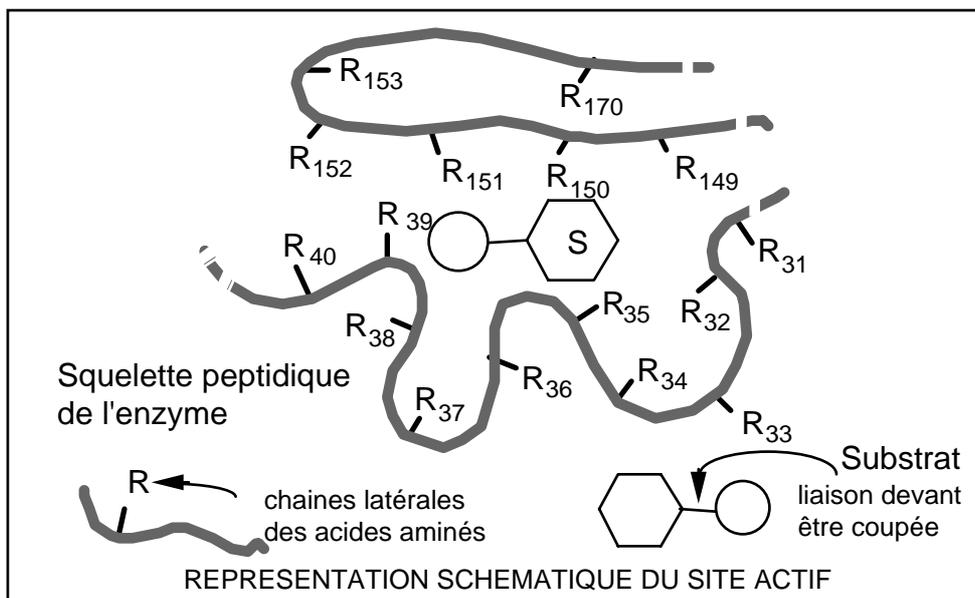
4.6. Rôle biologique des effecteurs enzymatiques



5. LES ISOENZYMES

6. LE SITE ACTIF

6.1. Topologie du site actif



6.2. Nature de l'interaction enzyme-substrat

- 6.2.1. Interactions hydrogène
- 6.2.2. Transfert de charge

6.3. Mise en évidence du site actif

- 6.3.1. Réactifs de groupes
- 6.3.2. Marquage par le substrat ou ses analogues

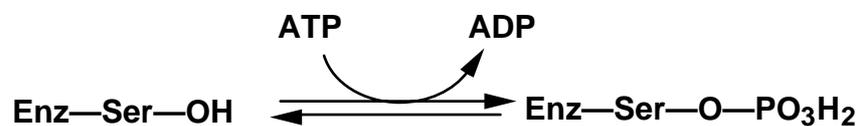
7. REGULATION DE L'ACTIVITE ENZYMATIQUE

7.1. Contrôle génétique de la synthèse des enzymes

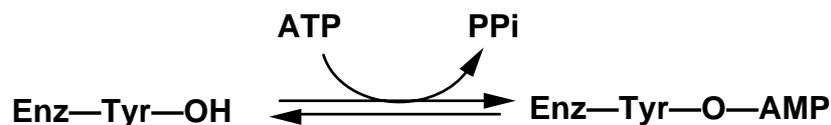
7.2. Régulation par modification structurale de l'enzyme

7.2.1. Systèmes réversibles

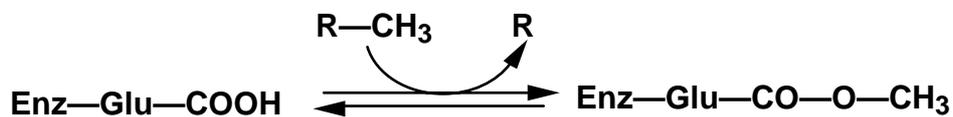
a) Phosphorylation - déphosphorylation : Ser, Thr, Tyr



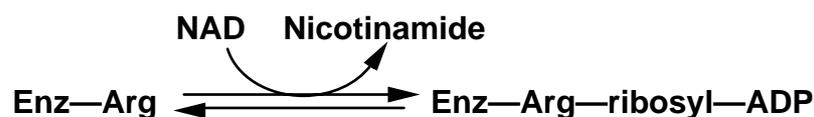
b) Adénylylation - désadénylylation : Tyr



c) Méthylation - déméthylation : Glu



d) MonoADP-ribosylation : Arg, Asn, Lys, Cys



7.2.2. Systèmes irréversibles

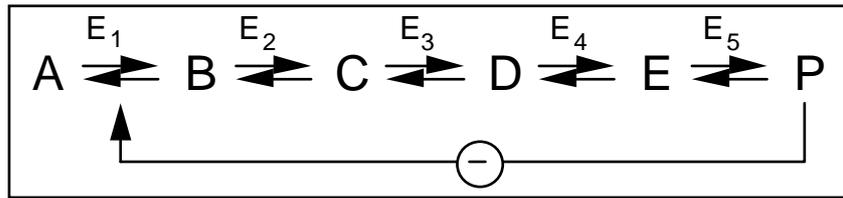
- a) Activation des proenzymes en enzymes par protéolyse limitée.
- b) Activation des proenzymes par addition de coenzymes

7.3. Régulation au niveau du site catalytique

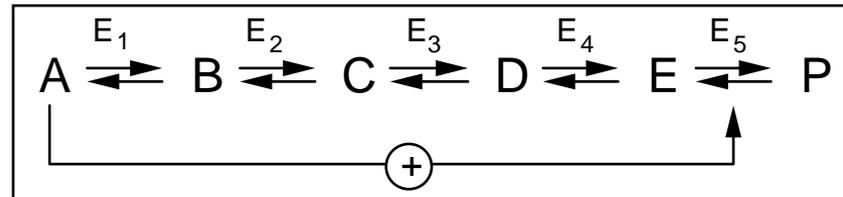
- 7.3.1. En fonction de K_M et de la concentration en substrat
- 7.3.2. Inhibiteurs et activateurs

7.4. Régulation allostérique

7.4.1. Inhibition par le produit final



7.4.2. Activation par le précurseur



7.4.3. Activation ou inhibition par des métabolites

8. UTILISATION DES ENZYMES EN BIOLOGIE

- 8.1. Enzyme de Conversion de l'Angiotensine (ECA)
- 8.2. Amylase
- 8.3. Créatine phosphokinase (CPK)
- 8.4. Lactate-déshydrogénase (LDH)
- 8.5. Phosphatases alcalines (PAI)

LES COENZYMES

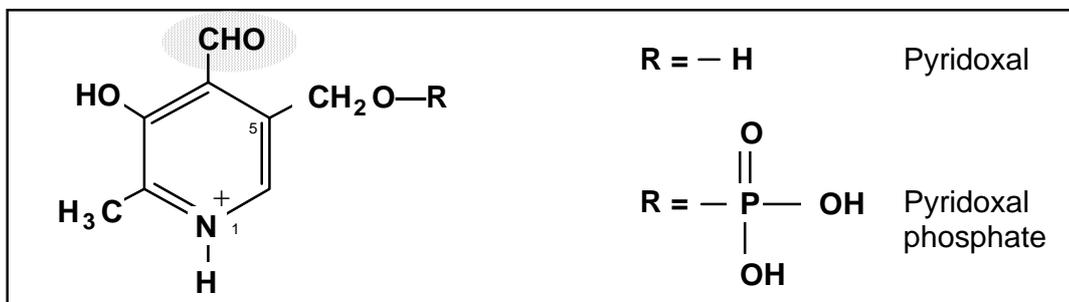
1. DEFINITION ET PROPRIETES

2. CLASSIFICATION

COENZYMES DE TRANSFERT DE GROUPES

1. PYRIDOXAL PHOSPHATE (PLP)

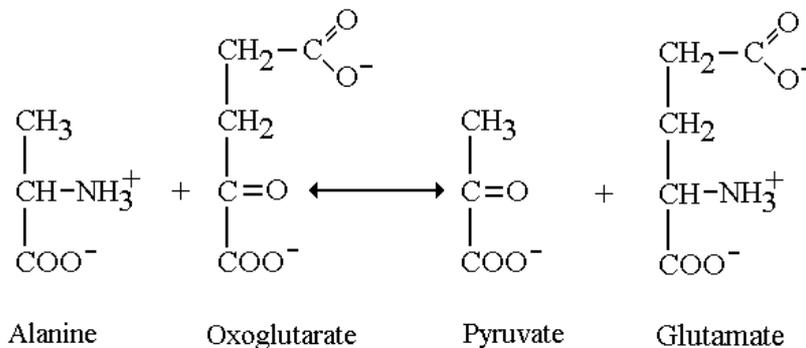
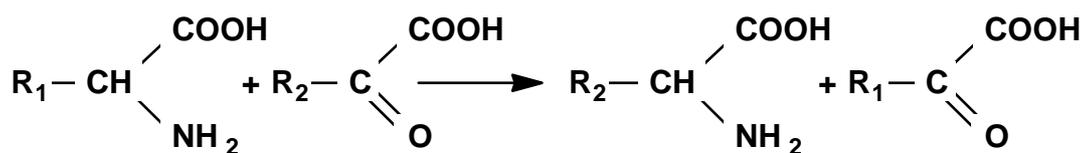
1.1. Structure



1.2. Source

1.3. Réactivité

1.3.1. Transamination entre un α aminoacide et un α cétoacide

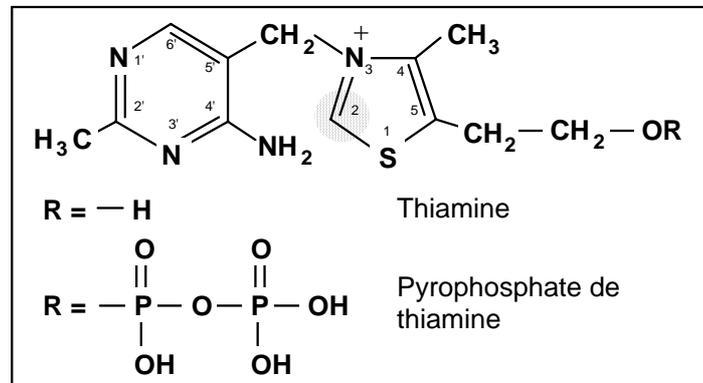


1.3.2. Décarboxylation

1.3.3. Racémisation

2. PYROPHOSPHATE DE THIAMINE (TPP)

2.1. Structure



2.2. Source

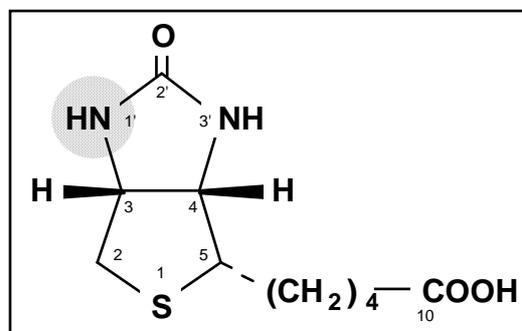
2.3. Principaux types de réactions catalysées

2.3.1. Décarboxylation d'acides α cétoniques

2.3.2. Réactions de transcétolisation

3. BIOTINE

3.1. Structure



3.2. Réactivité

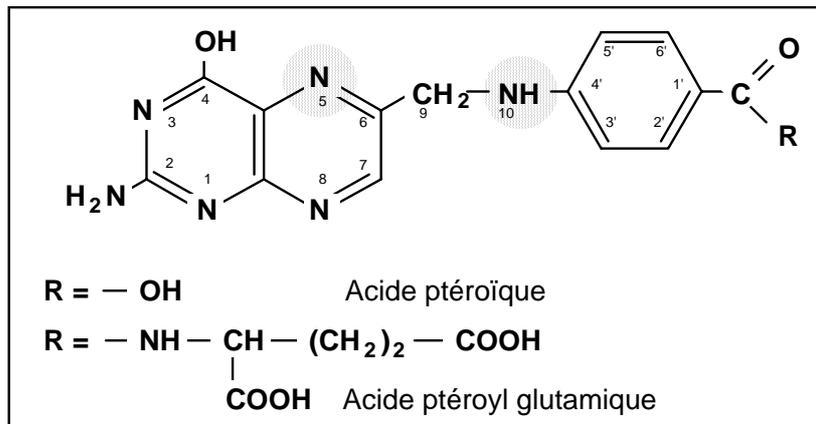
3.2.1. Carboxylation

3.2.2. Décarboxylation

3.2.3. Transcarboxylation

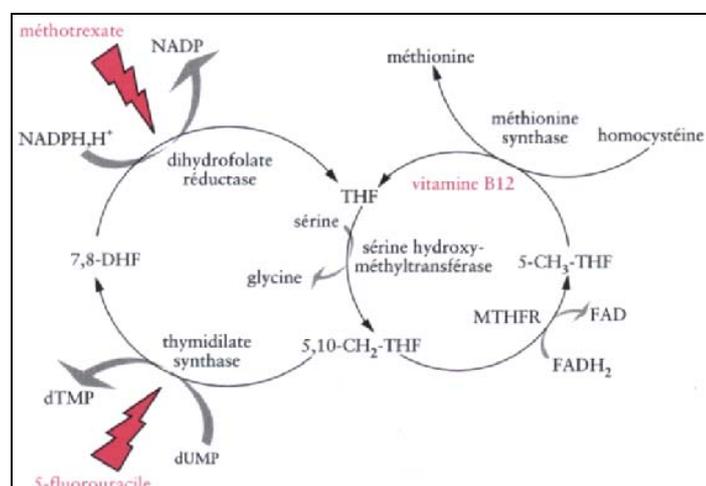
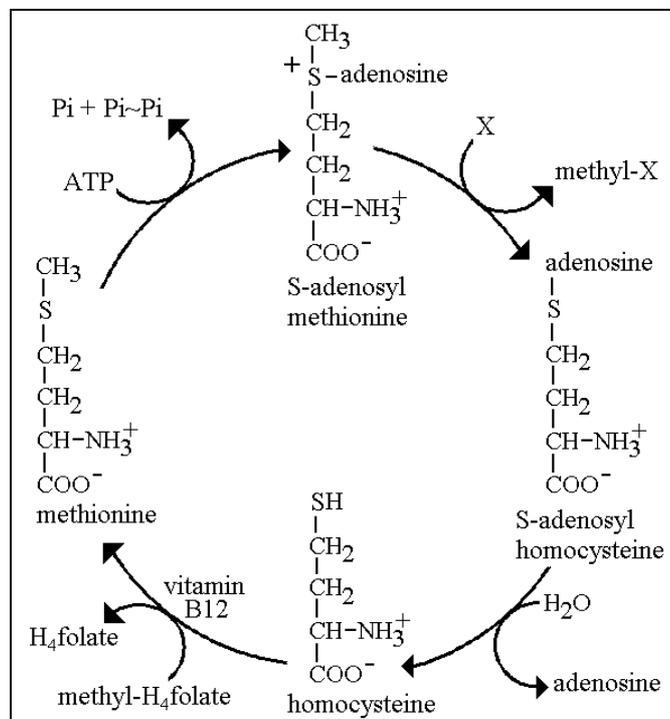
4. FOLATES (vit B9)

4.1. Structure



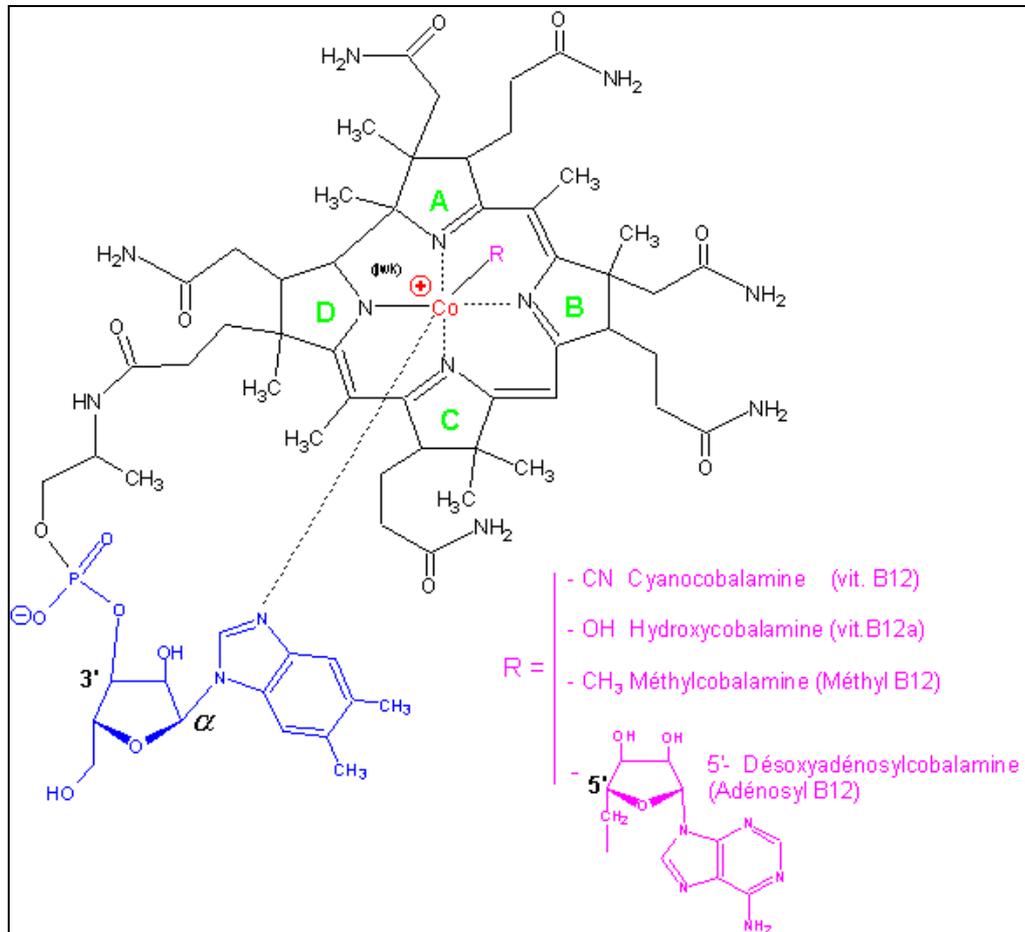
4.2. Source

4.3. Réactions catalysées



5. COBALAMINE (vitamine B12)

5.1. Structure



- le cobamide coenzyme B12 **R = — 5' désoxyadénosine**
- les vitamines B12 :
 - R = — CN** pour la cyanocobalamine (vit B12)
 - R = — OH** pour l'hydroxycobalamine (vit B12a)
 - R = — CH₃** pour la méthylcobalamine (méthyl B12)

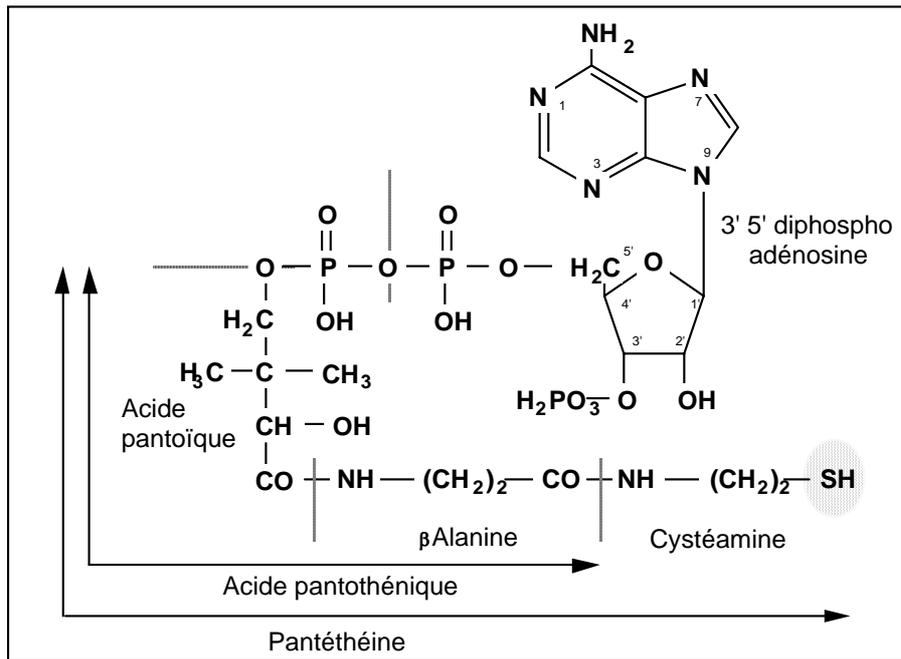
5.2. Source

5.3. Types de réactions où intervient le coenzyme B12

- 5.3.1. Isomérisations
- 5.3.2 Transfert de groupe CH₃

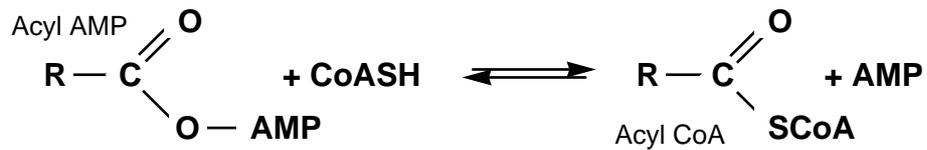
6. COENZYME A

6.1. Structure



6.2. Réactions catalysées

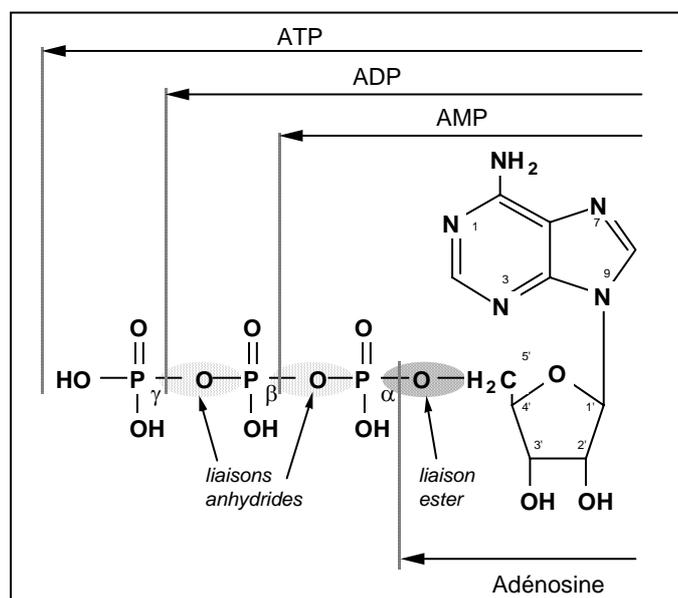
6.2.1. Réactions d'acylation



6.2.2. Réactions de condensation

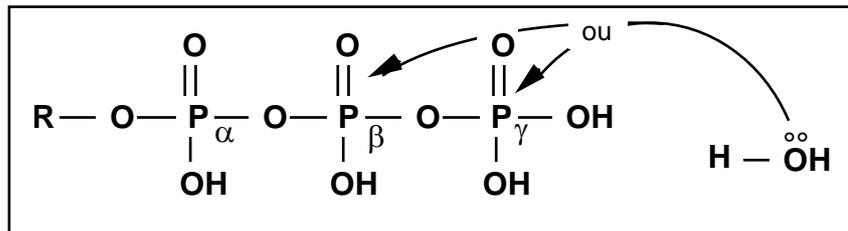
7. NUCLEOSIDES 5' MONO ET POLYPHOSPHATES

7.1. Structure de l'ATP



6.2. Propriétés de l'ATP

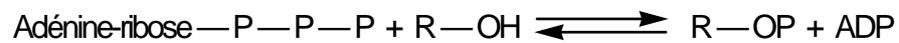
6.2.1 Hydrolyse de l'ATP



6.2.2. Complexation

6.3. Principaux types de réactions où intervient l'ATP

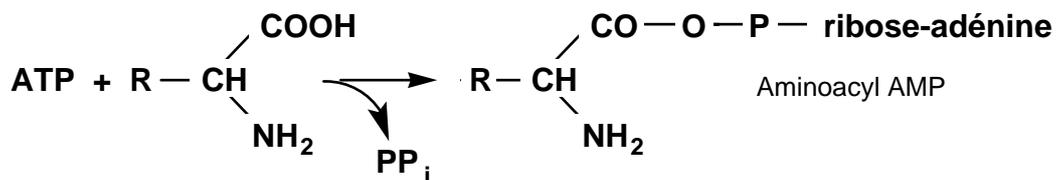
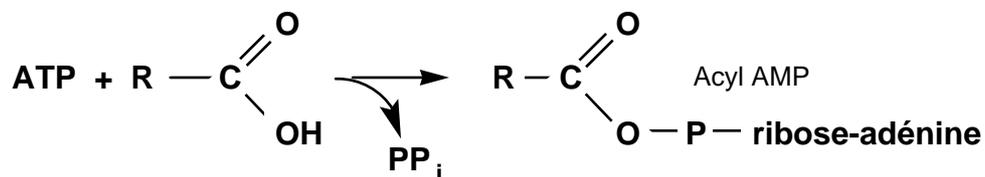
6.3.1. Transfert de phosphate



6.3.2. Transfert de pyrophosphate



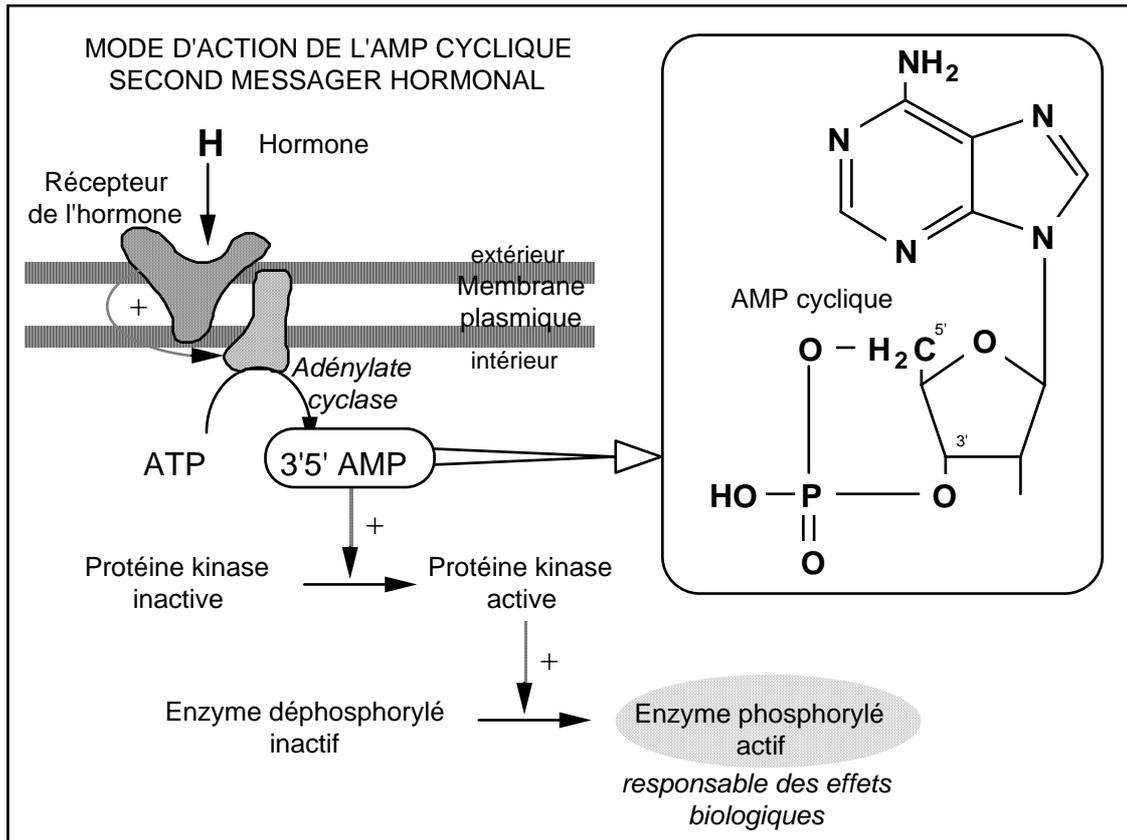
6.3.3. Transfert d'adénosine monophosphate



6.4. Autres nucléosides phosphates

6.4.1. Nucléosides diphospho - oses

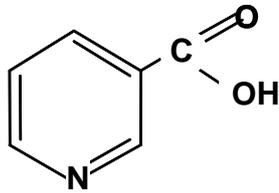
6.4.2. Nucléosides monophosphate cycliques



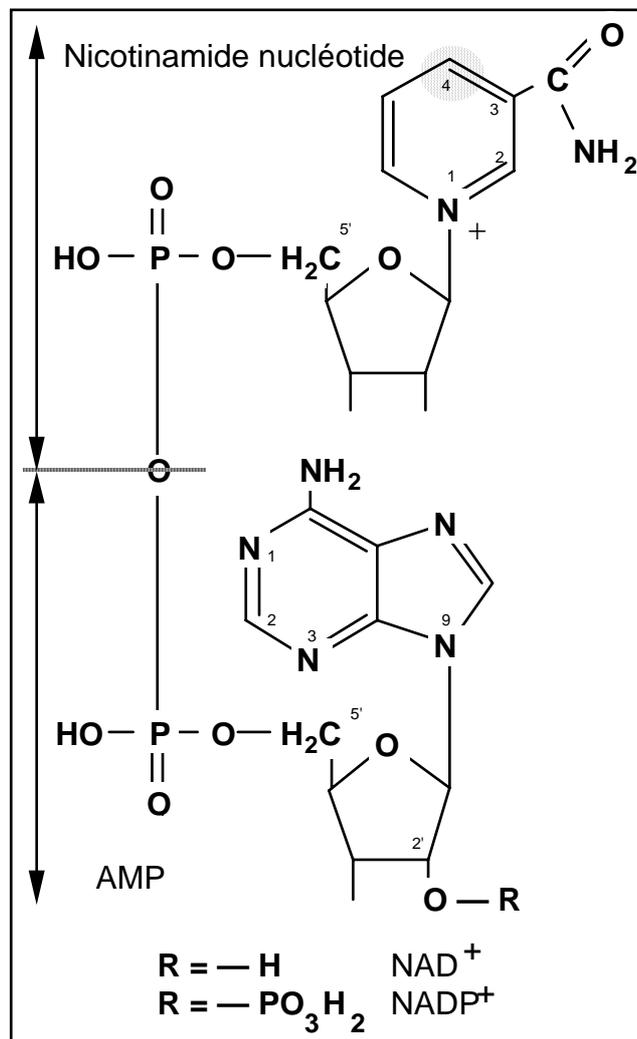
COENZYMES D'OXYDO-REDUCTION

1. COENZYMES NICOTINIQUES

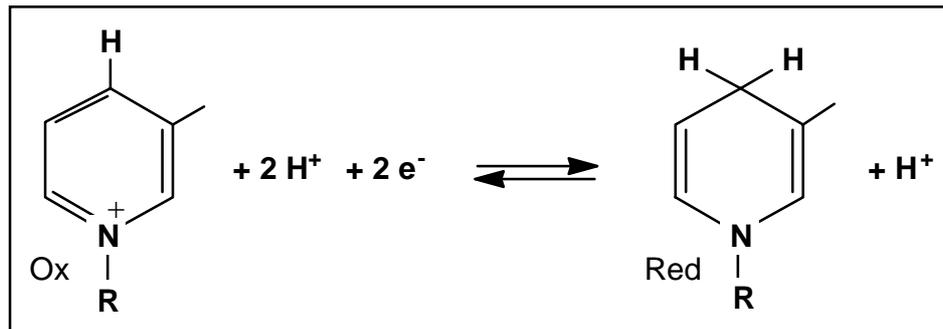
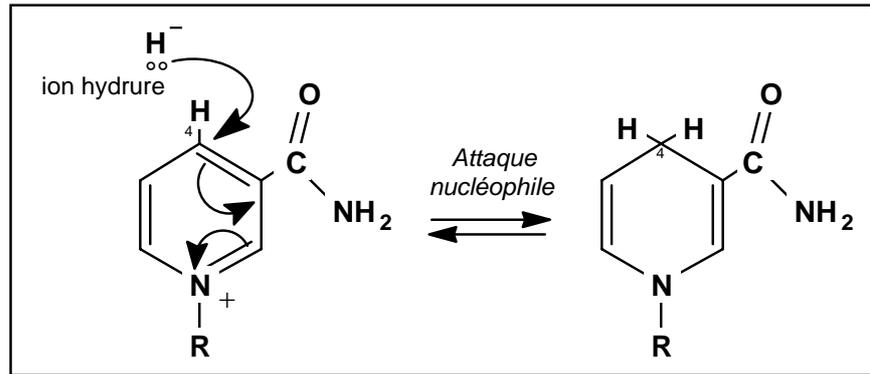
1.1. Structure



1.1.1. Nicotinamide adénine dinucléotide NAD⁺

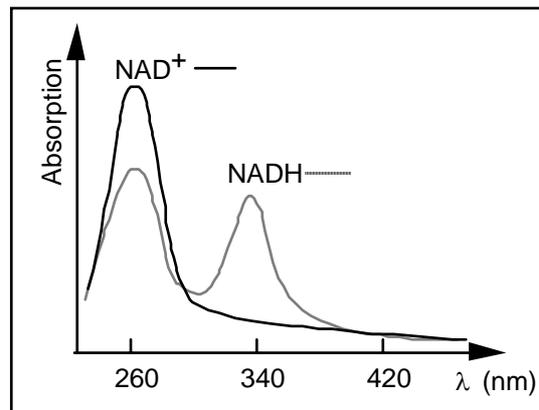


1.1.2. Le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate NADP⁺



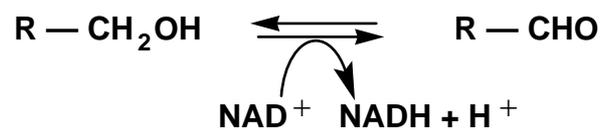
1.2. Sources

1.3. Propriétés optiques des coenzymes pyridiniques

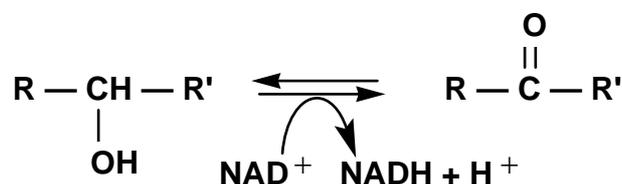


1.4. Principaux types de réactions catalysées par les coenzymes pyridiniques

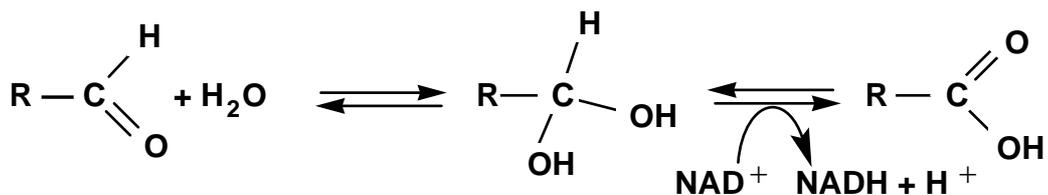
1.4.1. Oxydation d'alcools primaires



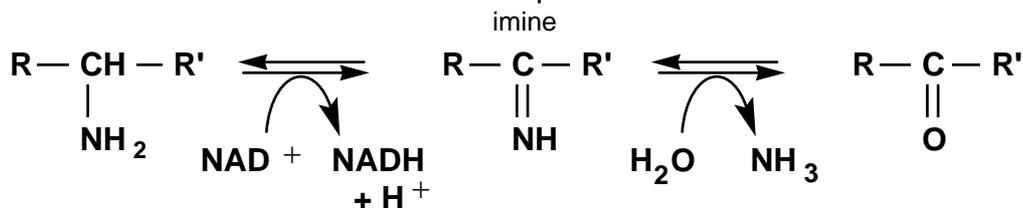
1.4.2. Oxydation d'alcools secondaires



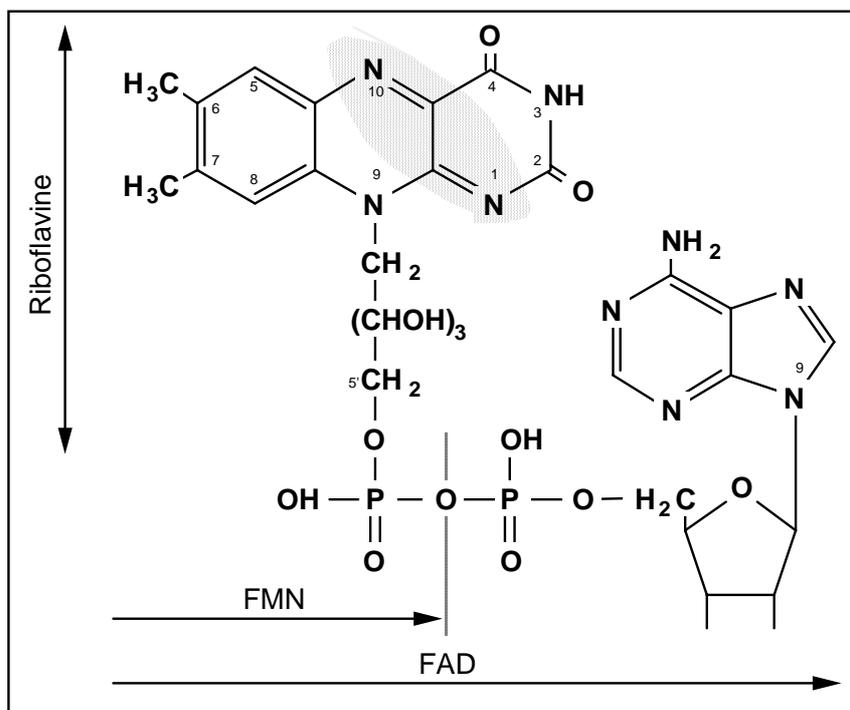
1.4.3. Oxydation d'aldéhydes hydratés



1.4.4. Transformation d'amines primaires en cétones

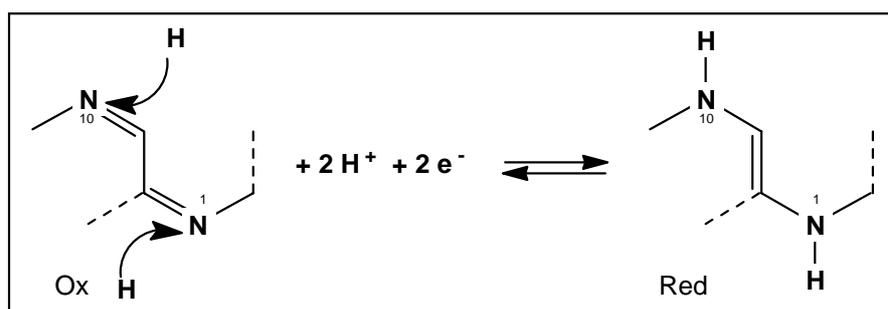
2. COENZYMES FLAVINIQUES

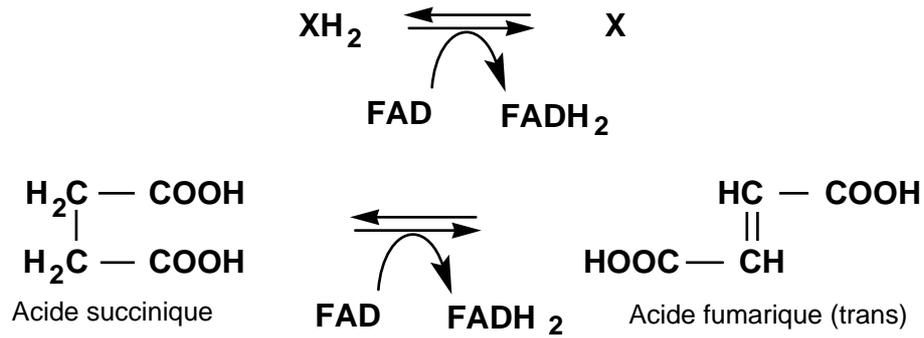
2.1. Structure



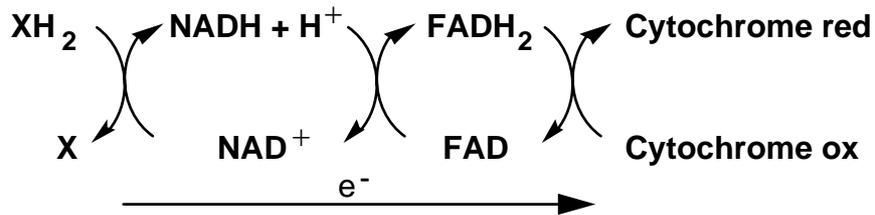
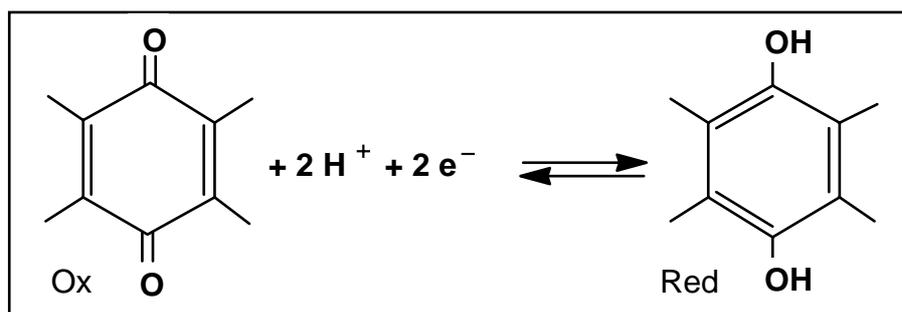
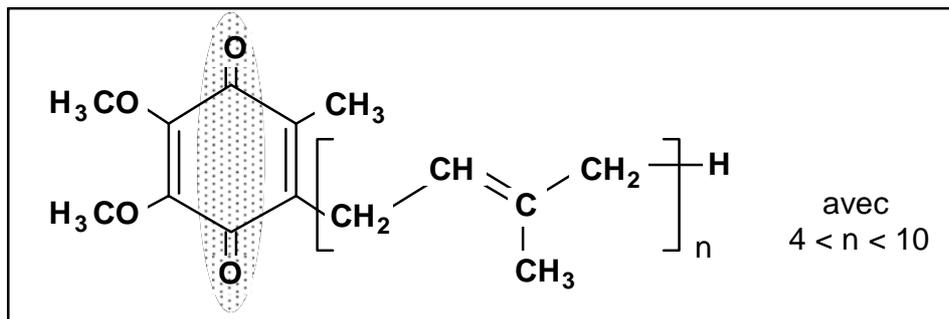
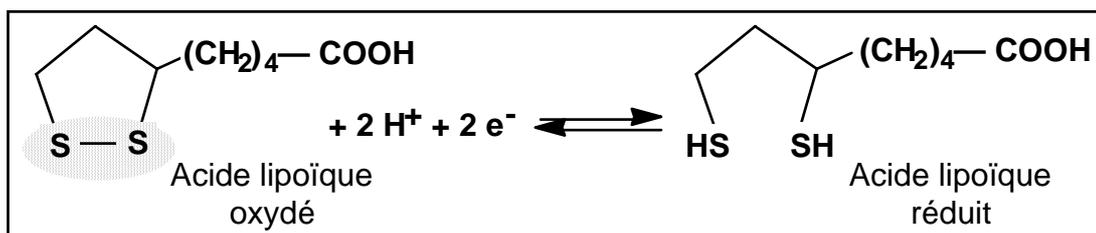
2.2. Sources

2.3. Réactions catalysées par les coenzymes flaviniques

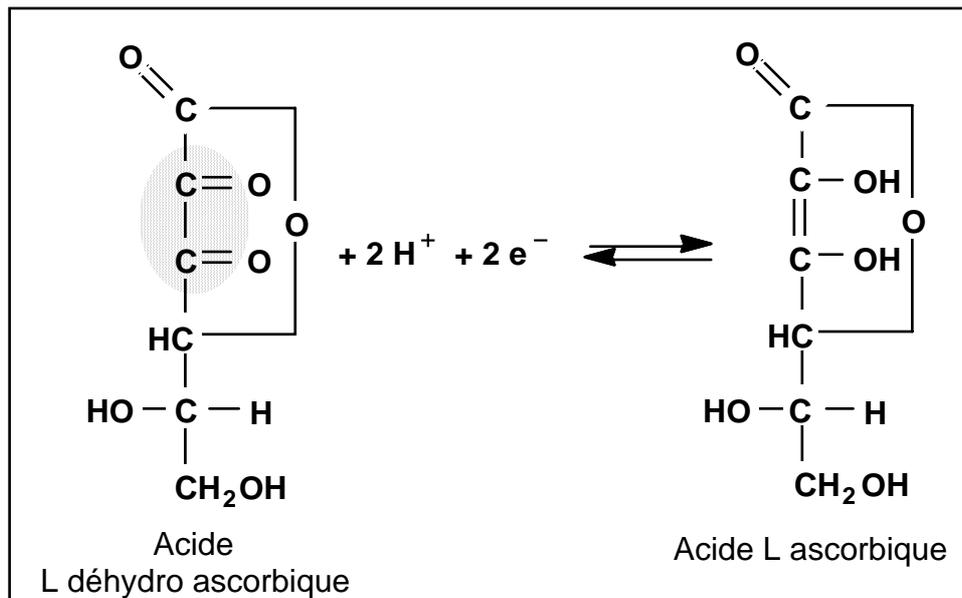


2.2.1. Hydrogènes provenant d'un substrat réduit XH_2 

2.2.2. Hydrogènes issus de coenzymes nicotiniques réduits

**3. COENZYMES QUINONIQUES****4. ACIDE LIPOÏQUE**

5. ACIDE ASCORBIQUE



6. LE GLUTATHION

