

T.D. n°1 : Structure des enzymes

1. Structure des protéines :

Les protéines sont des polymères d'acides aminés liés avec une liaison peptidique.

1. 1. Structure primaire :

C'est l'ordre dans lequel sont placés les acides aminés de la protéine. Elle est déterminée par :

- Nombre de chaînes polypeptidiques.
- Nombre et nature des acides aminés constitutifs.
- Séquence des acides aminés dans chaque chaîne en partant de l'acide aminé N terminal vers le C terminal.
- Emplacement des ponts disulfures inter et intrachaîne.

Exemple :

L'insuline du bœuf est constituée de deux chaînes polypeptidiques de 21 et 30 acides aminés. Elle renferme 3 ponts disulfures : un pont intrachaîne liant les acides aminés 6 et 11, deux ponts interchaînes entre les acides aminés A7 – B7 et A20 - B19.

1. 2. Structure secondaire :

C'est une forme régulière adoptée à une partie de la protéine (feuillet β , hélice α , coude). Autrement dit, c'est la conformation des liaisons peptidiques.

La structure en **hélice α** est caractérisée par :

- La cohésion de la structure est due aux liaisons hydrogènes entre les atomes C=O et N-H de 2 liaisons peptidiques superposées. Les interactions de Van der Waals, établies par les atomes étroitement empaquetés au cœur de l'hélice, confèrent à cette dernière une stabilité supplémentaire.
- Le tour de l'hélice contient 3.6 acides aminés.
- Les chaînes latérales des acides aminés (radicaux) sont situées à l'extérieur de l'hélice.

La structure en **feuillet β** est caractérisée par :

- La cohésion de cette structure est due aux liaisons hydrogènes entre les atomes C=O et N-H entre 2 chaînes polypeptidiques allongées ou entre 2 régions d'une même chaîne.
- Formation des feuillets parallèles et d'autres antiparallèles.
- Les chaînes latérales des acides aminés (radicaux) sont situées de part et d'autre du feuillet.

1. 3. Structure tertiaire :

C'est la forme finale de la protéine. La protéine assemblée se replie pour former une structure tridimensionnelle précise :

Protéines globulaires : la plupart des protéines ont une forme compacte (comme un petit nuage).

Protéines fibreuses : elles sont longues et filiformes. Elles sont formées d'une seule hélice α et peuvent s'associer entre elles pour former des fibres résistantes.

Cette structure est stabilisée par les liaisons hydrogènes, les interactions hydrophobes, les interactions salines, les ponts disulfures et les forces de Van der Waals.

2. Enzymes monomériques :

Certaines enzymes sont constituées d'une seule sous unité ou une seule chaîne polypeptidique. Il s'agit le plus souvent d'enzymes sécrétées telle : la chymotrypsine et la ribonucléase pancréatique (protéases).

3. Enzymes oligomériques :

D'autres enzymes, plus nombreuses, sont constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques ou sous unités identiques (homo-oligomère) ou différentes (hétéro-oligomère) reliées par des liaisons non covalentes. On parle alors de protomères ou de monomères formants un oligomère.

Protéine oligomérique :

A une forme globulaire et comporte peu de sous unités (2-8) (*Oligo : peu*).

Protéine multimérique (polymérique) :

Est souvent fibrillaire et contient plusieurs sous unités ; plus de 12.

3. 1. Structure quaternaire :

La structure quaternaire décrit l'association de plusieurs sous unités protéiques par des liaisons non covalentes (hydrogène, ionique et très souvent hydrophobe) pour former la protéine définitive.

L'assemblage des sous unités se fait de manière spontanée est très spécifique. Il est plus stable que chaque sous unité isolée.

L'association entre les sous unités est réalisée par des zones de contact entre protomères ou monomères. Ces zones doivent être mobiles pour que l'oligomère puisse remplir ses fonctions.

3. 2. Formule moléculaire :

La composition en chaînes polypeptidiques et en monomères est symbolisée par la formule moléculaire dans laquelle on indique :

- *La nature des sous unités*

Désignée par des lettres majuscules (A, B, C,...), des lettres grecques (α , β , γ ,...) ou des lettres évoquant la propriété de chaque monomère.

- *Le nombre des sous unités par molécule complète.*

Exemple :

Hémoglobine = $2\alpha 2\beta$.

Insuline = $(AB)_8$ en présence de l'ion Zn^{++} .

Lactate déshydrogénase (LDH) = H_4, H_3M, H_2M_2, HM_3 ou M_4 .

4. Les isoenzymes (isozymes) :

Les isoenzymes sont des protéines enzymatiques très voisines par leur propriété, synthétisées par le même organisme et catalysent la même réaction. Ce sont des formes physiquement distinctes ayant une même activité catalytique et qui peuvent être présentes dans différents tissus d'un même organe, dans différents types cellulaires ou dans des compartiments subcellulaires différents.

4. 1. Différences entre isoenzymes :

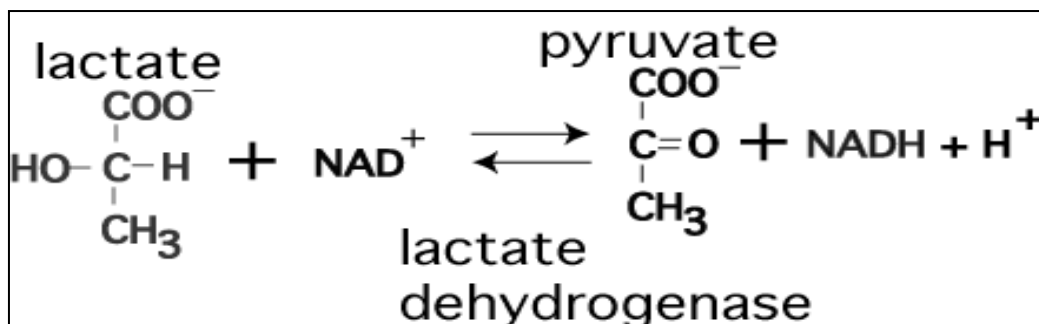
- ☒ Sur le plan structural, l'enzyme peut avoir une seule sous unité dont la séquence polypeptidique est plus ou moins différente d'un organe à un autre, ou bien plusieurs sous unités agencées différemment.
- ☒ Ceci est dû au fait que les synthèses des sous unités sont contrôlées par des locus génétiquement distincts, exprimés différemment dans divers tissus, cellules ou organites, qui résultent d'adaptation physiologique.
- ☒ En plus, les isoenzymes semblent différer les uns des autres par des propriétés de détail notamment par leurs coefficients cinétiques (K_m et V_m) et leur spécificité.

4. 2. Origine :

Les isoenzymes s'observent sous forme de bandes multiples après une séparation qui est le plus souvent une électrophorèse. Elles s'observent souvent lors de la purification des enzymes de la glycolyse et du métabolisme intermédiaire (hexokinase, énalase, aldolase, xanthine oxydase, isocitrate et malate déshydrogénase).

On peut penser que l'organisme renferme des isoenzymes afin d'optimiser le fonctionnement de telle ou telle réaction en fonction des besoins physiologiques précis des différents tissus.

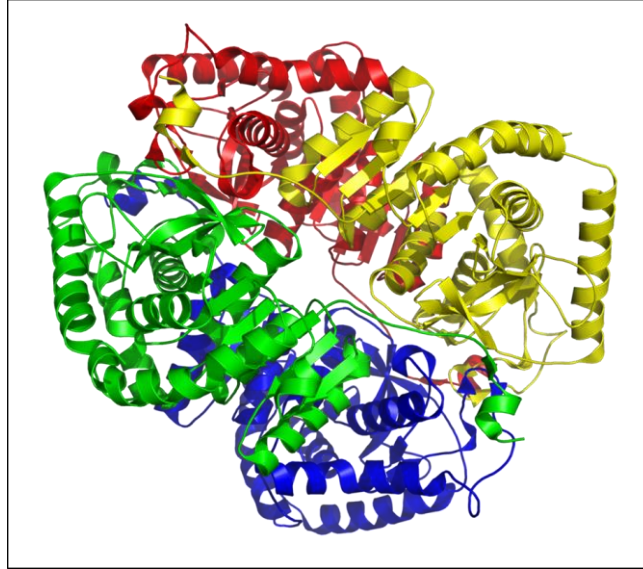
4. 3. Exemple (cas du lactico-déshydrogénase LDH) :



Chez les mammifères et l'Homme, cette enzyme comporte quatre chaînes polypeptidiques unies entre elles par des liaisons non covalentes. En fait, il existe deux types de chaînes : **H** (Heart : cœur) et **M** (Muscle).

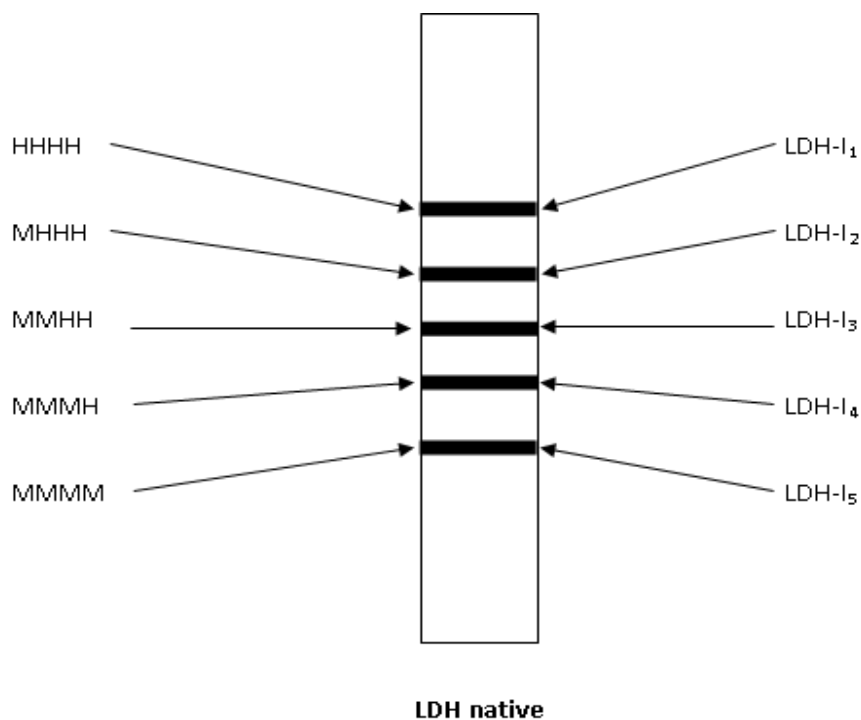
Cette enzyme est répandue dans tous les organes mais la composition en chaînes polypeptidiques varie avec l'organe :

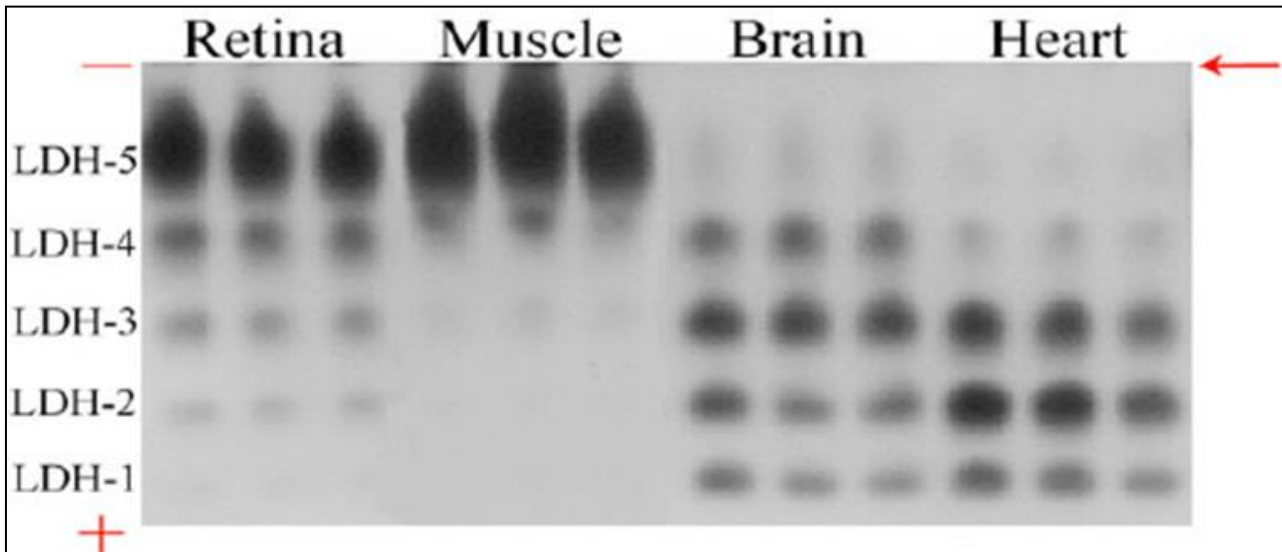
- Dans le muscle cardiaque, la LDH comporte 4 sous unités H (H₄ ou HHHH).
- Dans les autres muscles et le foie, la LDH comporte 4 sous unités M (M₄ ou MMMM).
- Dans les autres organes, existent des combinaisons intermédiaires : H₃M (HHHM), H₂M₂ (HHMM) ou HM₃ (HMMM).



Chez l'Homme, les deux gènes **M** et **H** sont portés par des chromosomes différents. L'isoenzyme H₄ possède par rapport à l'isoenzyme M₄ :

1. Constante de Michaelis (Km) plus élevée pour le pyruvate et vitesse maximale (V_m) plus faible pour la réduction de ce dernier.
2. Une inhibition moins marquée par le pyruvate.
3. Spécificité moindre ; H₄ peut réduire le 2-oxobutirate à la place du pyruvate et accepter un analogue de NAD⁺.





5. Système multienzymatique :

Les enzymes catalysant une suite de réaction d'une même voie métabolique peuvent s'associer au sein d'un complexe multienzymatique dont la masse moléculaire peut atteindre plusieurs milliers d'unité. Ces systèmes comportent généralement une enzyme clef qui peut être activée ou inhibée par des effecteurs spécifiques (rétroinhibition, rétrocontrôle).

6. Enzymes allostériques :

6. 1. Généralités :

Il s'agit d'une catégorie particulière d'enzymes qui jouent un rôle fondamental dans la régulation des voies métaboliques chez tous les organismes vivants.

Exemple :

Dans la voie métabolique : $A \longrightarrow B \longrightarrow C \longrightarrow \dots \longrightarrow Z$

L'enzyme qui catalyse la 1^{ère} réaction est inhibée par le produit Z (Rétro inhibition = feed back).

En fait, l'enzyme fixe réversiblement Z sur un site différent du site catalytique. Dans ce cas, Z s'appelle effecteur ou ligand allostérique de l'enzyme.

6. 2. Allostérie :

Le terme allostérie (*allos* : en grecque autre, différent) provient du fait que ces enzymes sont inhibées ou activées par des effecteurs, inhibiteurs ou activateurs, stériquement différents de ou des substrats.

Ces effecteurs se lient à des sites distincts du site actif, appelés site allostérique, par des liaisons non covalentes. Ainsi, le complexe enzyme-effecteur est dissociable (réversible).

Les effecteurs sont donc des régulateurs de l'activité enzymatique allostérique puisque leur fixation se traduit par un abaissement ou par un accroissement de la vitesse initiale.

6. 3. Propriétés des enzymes allostériques :

- Elles ont une structure quaternaire.
- Adoptent un comportement cinétique non conforme à la fonction de Michaélis.
- Subissent des changements conformationnels sans perte d'activité biologique. Ces changements sont détectables par différentes mesures physiques ou cinétiques.
- Elles ont généralement une fonction régulatrice dans le métabolisme, en particulier, dans les voies de synthèse.

6. 4. Coopérativité :

Les interactions allostériques, entre les sous unités de la même enzyme, sont des interactions coopératives provoquées par la fixation d'un ligand (effecteur ou modulateur) à un site spécifique en modifiant la liaison d'un second ligand à un autre site de la protéine enzymatique. C'est-à-dire que la fixation d'une molécule de substrat sur une sous unité favorise ou non la fixation d'autres molécules sur le reste des sous unités.

Cette coopérativité se traduit par la courbe sigmoïde qui lie la vitesse initiale à la concentration du ligand.

