

Chapitre 2 : Topologie du centre actif des Enzymes

Objectifs :

- Comprendre la structure et l'organisation du centre actif
- Identifier les composantes principales (site de fixation, site catalytique)
- Expliquer les modèles d'interaction enzyme –substrat
- Classifier les différentes topologies du centre actif
- Analyser le rôle des acides aminés dans la catalyse enzymatique

Le **centre actif** d'une enzyme est la région spécifique où se fixe le substrat et où se déroule la réaction catalytique. Sa structure tridimensionnelle joue un rôle clé dans la spécificité et l'efficacité de l'enzyme. La **topologie** du centre actif désigne l'organisation spatiale des acides aminés qui composent cette région et leur arrangement pour favoriser l'interaction avec le substrat.

1. Structures des enzymes :

On distingue quatre structures des enzymes :

1.1. Structure primaire : c'est l'ordre d'enchaînement des acides aminés de série L, liés entre eux par une liaison de type amide, la liaison peptidique. Ce premier niveau de structure est responsable au moins indirectement des niveaux supérieurs d'organisation et ainsi de toutes les propriétés des protéines.

1.2. Structure secondaire : elle résulte de l'établissement de liaisons hydrogène entre les groupements amide (-NH) et carbonyle (-CO) du squelette peptidique. L'existence de structures secondaires vient du fait que les repliements énergétiquement favorables de la chaîne peptidique sont limités et que seules certaines conformations sont possibles. Il existe des catégories de structures secondaires selon le repliement des liaisons peptidiques : les hélices (de type alpha), les feuillettes (de type bêta).

1.3. Structure tertiaire : la chaîne polypeptidique déjà ordonnée en structure secondaire peut se replier sur elle-même pour former une molécule de configuration spatiale bien déterminée (en général, de forme globulaire dans le cas des enzymes).

1.4. Structure quaternaire : les protéines sont souvent constituées de plusieurs sous-unités qui correspondent chacune à une chaîne polypeptidique de structure tertiaire définie. L'association de ces sous-unités entre elles par le même type de liaisons que celles rencontrées au niveau de

la structure tertiaire constitue la structure quaternaire de la protéine. C'est de cette association dont dépend l'activité de la protéine.

1.1. Types d'enzymes

1.1.1. Les enzymes monomériques : Elles sont constituées d'une seule chaîne polypeptidique (1 seule sous unité) qui contient environ 100 à 300 résidus PM (13-35Kda), la plupart catalyse les réactions d'hydrolyse telles que le lysozyme (129 résidus), la chymotrypsine (241résidus) la trypsine (223 résidus), la ribonucléase (124 résidus).

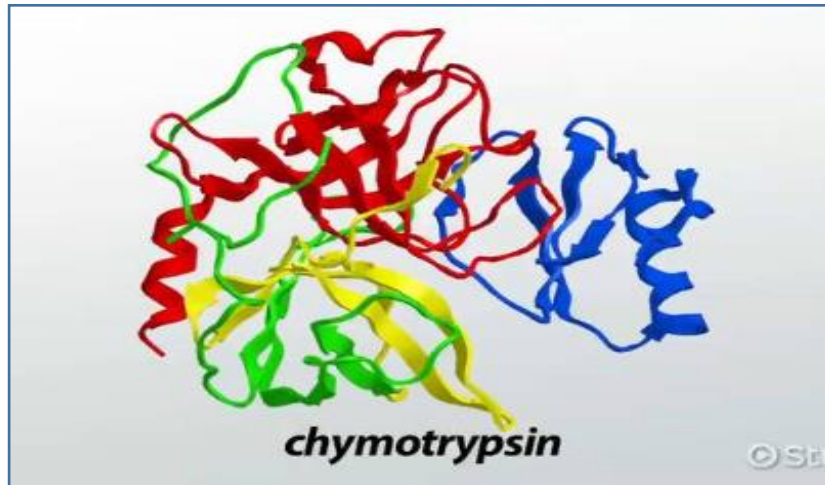


Figure 1. Enzyme monomérique

1.1.2. Les enzymes oligomériques : adoptent une conformation quaternaire, ils sont constitués de deux à plusieurs sous unités qui sont liées entre elles par des liaisons non covalentes.

Exemple : Le glycogène phosphorylase du muscle.

1.1.3. Les isoenzymes : sont des enzymes oligomériques qui présentent plusieurs formes de structures quaternaires selon les proportions relatives des sous unités, elles ont la même spécificité de substrat et la même spécificité de réaction mais d'activités distinctes. Des tissus différents expriment des isoenzymes différentes, ce qui permet une meilleure adaptation aux besoins métaboliques.

1.1.4. Les complexes multienzymatiques :

Sont formés par l'assemblage de plusieurs enzymes associées entre elles par des liaisons non covalentes et qui catalysent des réactions successives d'une voie métabolique (le produit de la 1ère enzyme est le substrat de la 2ème enzyme, le produit de la 2ème enzyme est le substrat de la 3ème enzyme etc)

2. Structure et Organisation du Centre Actif

Le centre actif est généralement composé de :

- **Site de fixation** : Région où le substrat se lie à l'enzyme par des interactions non covalentes (liaisons hydrogène, forces de Van der Waals, interactions hydrophobes).
- **Site catalytique** : Partie du centre actif où se déroulent les étapes chimiques de la réaction (rupture ou formation de liaisons).

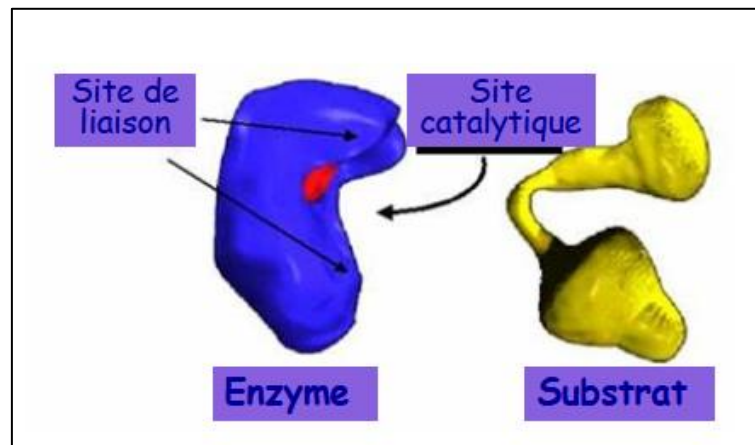
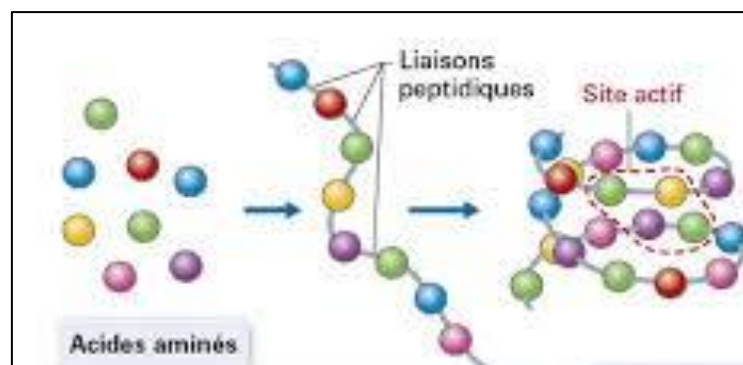


Figure 2. Structure de site actif

Les acides aminés du centre actif ne sont pas nécessairement contigus sur la chaîne peptidique mais se rapprochent lors du repliement de l'enzyme en structure tertiaire ou quaternaire.

Le site actif comprend 3 types d'acides aminés :

- **Acides aminés de "contact"** : les composants du site actif, ils sont situés trop près du substrat. Ils assurent la catalyse.
- **Acides aminés "auxiliaires"** : ils permettent la mobilité des zones situées au voisinage du site actif pour assurer une certaine flexibilité moléculaire.
- **Acides aminés "collaborateurs"** : ils servent de support fonctionnel et réduit la fragilité de la catalyse enzymatique.



2.1. Rôle des Acides Aminés Clés dans la Catalyse

Les acides aminés du centre actif exercent des fonctions spécifiques :

- **Donneurs/Accepteurs de protons** : Facilitent les réactions d'acide-base (ex. : l'histidine dans la chymotrypsine).
- **Nucléophiles** : Attaquent les substrats électrophiles (ex. : la sérine dans les sérine-protéases).
- **Stabilisateurs** : Maintiennent les états de transition grâce à des liaisons hydrogène (ex. : aspartate dans la triade catalytique).

Exemple : Triade catalytique de la chymotrypsine , Sérine : Noyau nucléophile attaquant la liaison peptidique, Histidine : Accepteur et donneur de protons pour activer la sérine, Aspartate : Stabilise l'histidine en ajustant son pKa

3. Modèles de Reconnaissance Substrat-Enzyme

La catalyse enzymatique nécessite la fixation du substrat au niveau du site actif.

Le site actif doit être dans une **conformation spatiale** telle que le substrat puisse s'y fixer, il existe différents modèles :

- **Modèle clé-serrure (Fischer, 1894)** :
Le substrat s'insère dans le centre actif comme une clé dans une serrure.
Ce modèle met en avant la complémentarité structurelle rigide.
- **Modèle d'ajustement induit (Koshland, 1958)** :
Le centre actif est flexible et se modifie légèrement pour s'adapter au substrat.
Ce modèle explique mieux la spécificité et les réactions multi-étapes.

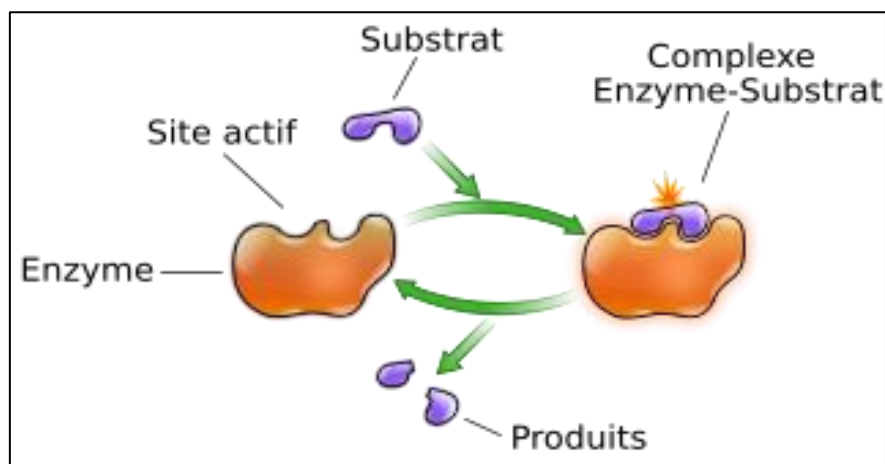


Figure 3. Reconnaissance Substrat Enzyme

4. Types de Topologie du Centre Actif

- **Sillon ou Fente :**
 - Exemple : Les protéases (trypsine, chymotrypsine).
 - Adapté pour les substrats longs ou polymériques (ex. : protéines).
- **Poche ou Cavité :**
 - Exemple : L'acétylcholinestérase.
 - Permet la fixation de petits substrats spécifiques.
- **Tunnel ou Canal :**
 - Exemple : Cytochrome P450.
 - Adapté aux réactions nécessitant le passage de substrats ou de produits à travers l'enzyme

5. Dynamique et Flexibilité du Centre Actif

Bien que les centres actifs soient structurés, ils conservent une certaine flexibilité qui leur permet :

- **Adaptation du centre actif :** Ajustement de la structure pour mieux envelopper le substrat (modèle de l'ajustement induit de Koshland).
- **Stabilisation des intermédiaires :** Maintien des états de transition pour réduire l'énergie d'activation.
- **Régulation allostérique :** Modification de la forme du centre actif par fixation d'un effecteur sur un site distant.

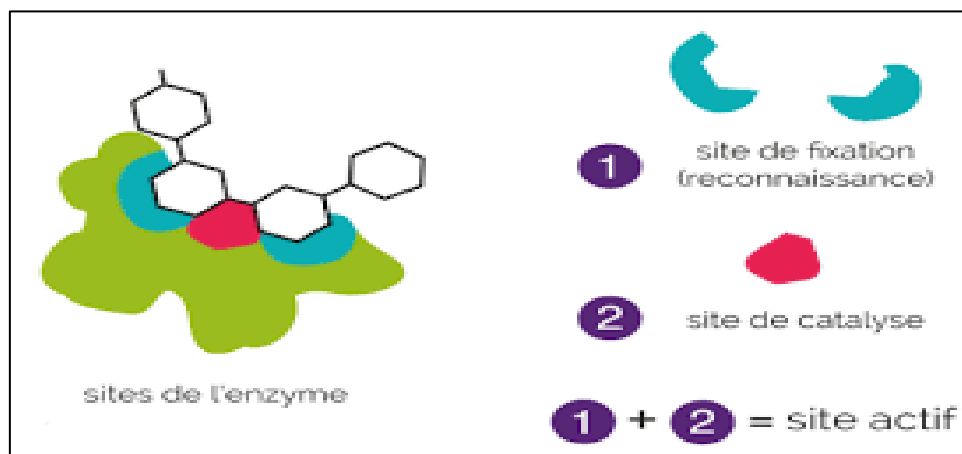


Figure 4. Schéma représentant site d'enzyme

6. Influence de la Topologie sur la Spécificité et la Catalyse

1. Spécificité de substrat : La forme du centre actif détermine quel substrat peut s'y lier.

Exemple : La trypsine reconnaît les résidus basiques (lysine, arginine) grâce à une poche chargée négativement.

2. Spécificité de réaction : Certaines enzymes ne catalysent qu'un type de transformation chimique (ex. : oxydation, hydrolyse).

Exemple : Les oxydoréductases possèdent des cofacteurs dans un tunnel pour transférer des électrons.

6.1. Applications de la Compréhension de la Topologie du Centre Actif

- **Conception de médicaments :** Cibler le centre actif pour inhiber une enzyme (ex. : les inhibiteurs de protéase dans les traitements du VIH).
- **Biotechnologie :** Modification enzymatique pour créer des enzymes aux propriétés améliorées (ex. : enzymes thermostables).
- **Diagnostic médical :** Détection d'enzymes spécifiques comme biomarqueurs (ex. : amylase dans la pancréatite).

6.2. Méthodes d'Étude de la Topologie du Centre Actif

1. **Cristallographie aux rayons X :** Détermination précise de la structure atomique (Image 1 Fig5 : une protéine)
2. **RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) :** Analyse de la dynamique des acides aminés (Image 2 Fig5 : une enzyme RNase).
3. **Modélisation moléculaire :** Simulations pour prédire la structure et les interactions (Image 3 Fig5 : modélisation de protéine par homologie).

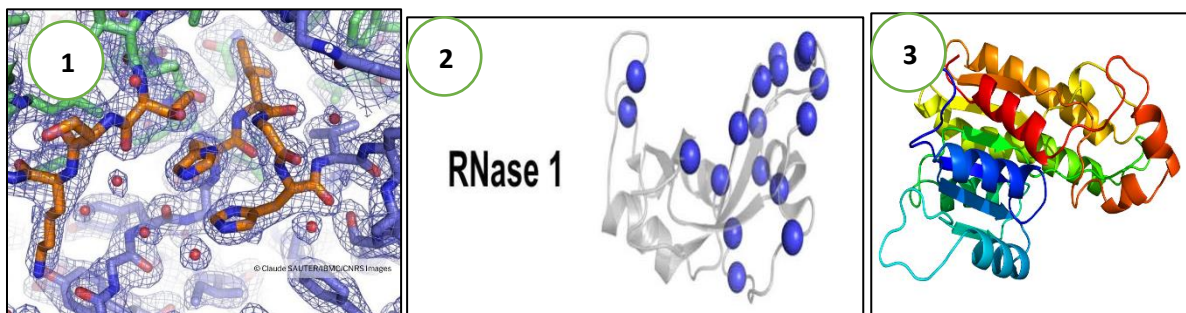


Figure 5. Méthodes d'Étude de la Topologie du Centre Actif