

Le site actif des enzymes

Introduction

Définition d'une enzyme : catalyseur biologique, majoritairement protéique.

Problématique possible : Comment l'organisation structurale et fonctionnelle du site actif permet-elle la catalyse enzymatique et son contrôle ?

I. Le site actif : une structure tridimensionnelle spécialisée

A. Un site formé par la structure tertiaire (voire quaternaire)

- Le site actif n'est pas une simple séquence continue, mais résulte du repliement de la protéine.
- Il met en jeu des acides aminés parfois éloignés dans la séquence primaire.
- Importance de la structure tertiaire (expérience d'Anfinsen)

Exemple : lysozyme et poche hydrophobe

B. Un site de liaison de substrats

- Interactions faibles : liaisons hydrogène, interactions ioniques, hydrophobes.
- Spécificité enzyme–substrat (approche expérimentale possible : glucose-oxydase avec glucose ou galactose non reconnu)
- Modèle d'adaptation induite : exemple d'adaptation induite
- Notion d'affinité : détermination du K_m par étude cinétique (courbe de cinétique michaelienne)

II. Le site actif, lieu de la catalyse enzymatique

A. Le site catalytique, lieu de la catalyse

- Acides aminés directement impliqués dans la transformation chimique (mise en évidence par mutagenèse dirigée)
- Peut inclure cofacteurs (ions métalliques, coenzymes).
- Spécificité de réaction : exemple du lysozyme (hydrolase), kinase...

B. Un exemple de mécanisme réactionnel

- Mécanisme (hexokinase ou lysozyme)
- V_{max} mesurée par étude cinétique : efficacité catalytique

III. Le site actif, lieu de contrôle de l'activité enzymatique

A. Approche cinétique

- Exemple d'enzymes avec ou sans inhibiteur

B. Contrôle de l'accès au site actif

- Trypsinogène
- Affinité et IC
- Allostérie : forme R plus accessible que T

C. Contrôle de l'état du site catalytique

- Sensibilité au **pH** (modification de l'état de protonation),
- INC et forme du site actif

Conclusion

Le site actif est une **structure tridimensionnelle précise**, résultat du repliement protéique.

Le site actif : stabilise l'**état de transition**, rapproche les substrats, et oriente correctement les molécules.

Il assure à la fois la **spécificité** de reconnaissance et l'**efficacité catalytique**.

Toute altération du site actif modifie l'activité enzymatique → importance biologique, médicale et évolutive.

Ouverture possible : ingénierie enzymatique et biotechnologies, médicaments

Le site actif des enzymes

Introduction

Définition d'une enzyme : catalyseur biologique, majoritairement protéique.

Enzyme = protéine à structure tridimensionnelle présentant un creux hydrophobe = site actif, où sont catalysées des réactions. Cette forme est indispensable (**expérience d'Anfinsen**).

Une enzyme fixe un ou plusieurs substrats et accélère une réaction chimique : ceci est réalisé par des acteurs différents du site actif = site de liaison + site catalytique

Problématique possible : *Comment l'organisation structurale et fonctionnelle du site actif permet-elle la catalyse enzymatique et son contrôle ?*

I. Le site de liaison et son importance

A. Un site qui fixe un ou plusieurs substrats

Rôle des acides aminés de liaison : lier les substrats et les positionner de manière propice à la réalisation de la réaction chimique

Spécificité : exemple de la glucose oxydase (glucose reconnu, pas galactose)

Affinité : détermination par étude cinétique : K_M

B. Un site déformable

Adaptation induite : l'hexokinase montre un changement de conformation en fixant le glucose

La liaison du substrat peut le déformer et le rendre plus réactif : lysozyme et cycle D

C. Un lieu de contrôle

- accessibilité (précurseurs comme le trypsinogène, transition allostérique R/T, phosphorylation ; dissociation des sous-unités de la PKA...)

- les inhibiteurs compétitifs : étude cinétique de la caféine sur la phosphodiesterase

II. Le site catalytique et son importance

A. Des acides aminés indispensables à la catalyse

Importance d'un ou plusieurs acides aminés : mise en évidence par mutagénèse dirigée

Exemple de l'hexokinase ou du lysozyme

Spécificité de réaction due à la nature de l'acide aminé catalytique

B. Un mécanisme réactionnel

C. La vitesse de catalyse et son contrôle

Cinétique et valeur de V_{max} : efficacité catalytique

Contrôles possibles :

- Etat d'ionisation de l'acide aminé catalytique selon le pH (hydrolases acides du lysosome ou lysozyme et pKa des acides aminés)
- Inhibiteur non compétitif et déformation du site (éloignement de l'acide aminé catalytique par le plomb qui se fixe sur la ferrochélatase : courbe associée).

Conclusion

Le site actif est une **structure tridimensionnelle précise**, résultat du repliement protéique.

Le site actif : stabilise l'**état de transition**, rapproche les substrats, et oriente correctement les molécules.

Il assure à la fois la **spécificité** de reconnaissance et l'**efficacité catalytique**.

Toute altération du site actif modifie l'activité enzymatique → importance biologique, médicale et évolutive.

Ouverture possible : ingénierie enzymatique et biotechnologies, médicaments