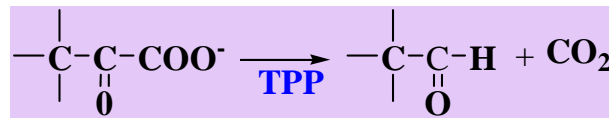


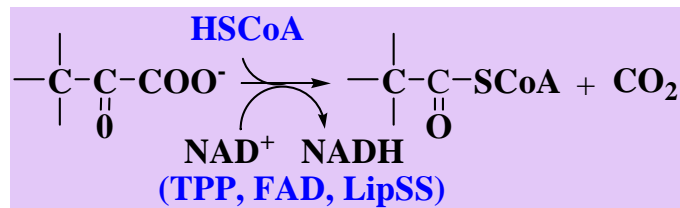
## Mécanisme enzymatique de la décarboxylation des $\alpha$ -cétoacides (détail)

## Décarboxylation des $\alpha$ cétoacides

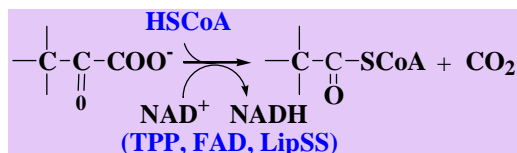
Décarboxylation **non oxydative** ( $\alpha$  cétoacides décarboxylases)



Décarboxylation **oxydative** ( $\alpha$  cétoacides déshydrogénases)

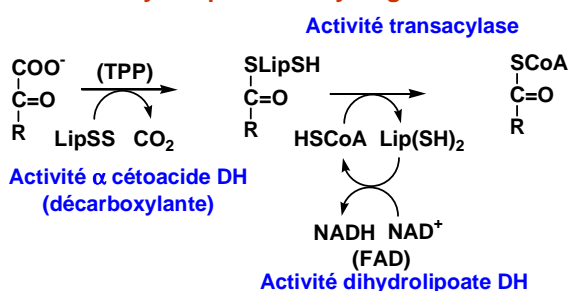


## Décarboxylation oxydative des $\alpha$ -cétoacides



La décarboxylation oxydative des  $\alpha$  cétoacides fait intervenir successivement trois activités enzymatiques :

- une activité  $\alpha$  cétoacide déshydrogénase décarboxylante ;
- une activité transacylase ;
- une activité dihydrolipoate déshydrogénase.



## Polarisation et coenzymes

La rupture de squelette nécessite une polarisation de la liaison qui sera coupée

- Pour qu'une liaison carbone carbone ou carbone hydrogène puisse être rompue, il faut que des fonctions polarisantes soient portées sur les carbones en  $\alpha$  ou  $\beta$  de la liaison.

Lorsque la liaison n'est pas suffisamment polarisée, un coenzyme activateur se fixe sur le carbone en  $\alpha$  et augmente la polarisation.

**Coenzymes activateurs :**

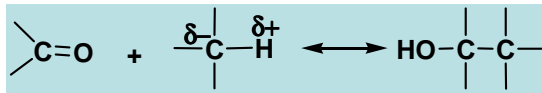
- Coenzyme A (CoASH)
- Acide lipoïque (LipSS)
- Pyridoxal phosphate (PLP)
- Thiamine pyrophosphate (TPP)

- Le type de coenzyme activateur intervenant dépend de la **fonction** sur laquelle il se fixe.

## Synthèse – rupture de squelette

▪ Les réactions chimiques entre molécules organiques impliquent la rupture et la création de liaisons covalentes

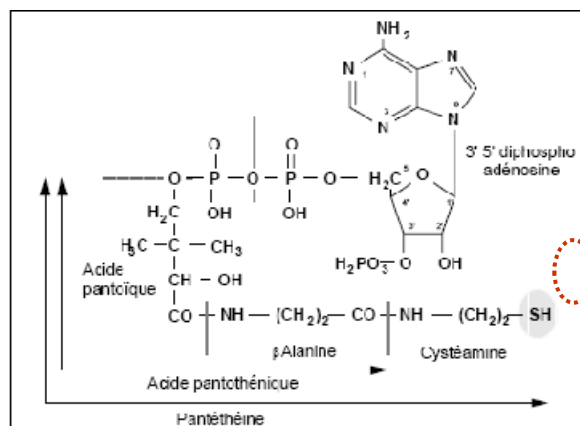
▪ Les synthèses de squelette se font généralement par addition d'un C-H polarisé sur un groupe C=O. Les ruptures forment donc un C-H polarisé et un C=O.



Ceci n'est possible que si les liaisons sont polarisées

## Le coenzyme A (CoASH)

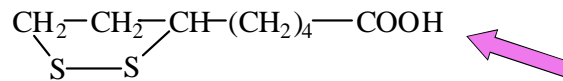
▪ Ce coenzyme se fixe sur la fonction **carboxylate** et polarise la liaison carbone carbone ou carbone hydrogène en  $\alpha$ .



▪ Il est indispensable pour permettre l'oxydation des acide gras.

## L'acide lipoïque (LipSS)

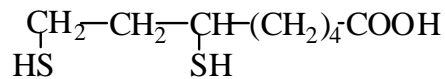
L'acide lipoïque ou lipoate est un groupe prosthétique de formule :



Il est condensé par son groupe COOH sur la fonction amine d'une lysine de l'enzyme.

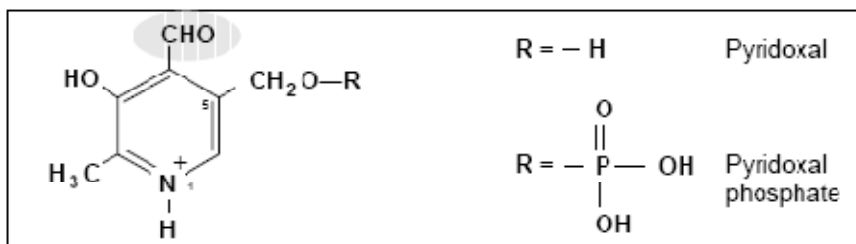
**NB :** vous remarquerez que l'on obtient ainsi une longue chaîne de 13 atomes (12 carbones et un azote).

L'acide lipoïque peut se réduire en acide dihydrolipoïque (dihydrolipoate) :



## Le pyridoxal phosphate (PLP)

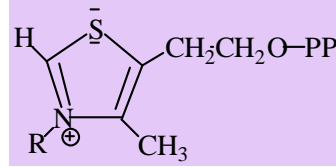
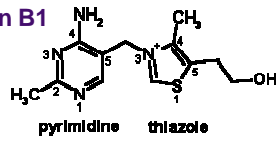
Le PLP se condense sur la fonction **amine**



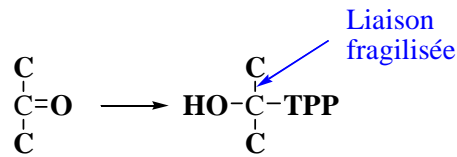
Il intervient en particulier dans la transamination et la décarboxylation des aminoacides

# Thiamine pyrophosphate (TPP)

Vitamin B1



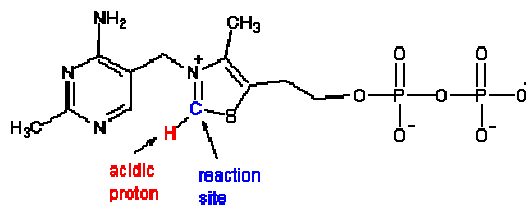
Elle se fixe par **synthèse de squelette** sur une fonction **cétone** et, par effet attracteur d'électrons, fragilise les liaisons C-C portées par la fonction cétone :



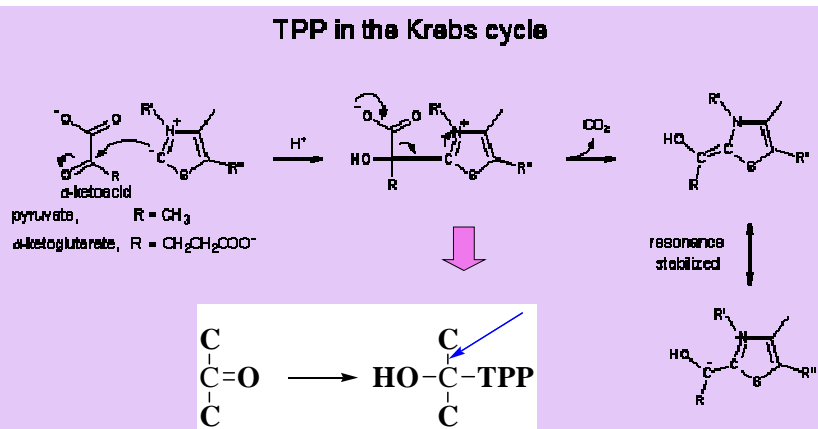
La thiamine pyrophosphate (TPP) est un coenzyme **activateur**.

**NB :** La dernière étape du mécanisme est une rupture de squelette libérant le TPP.

## Thiamine pyrophosphate (TPP)

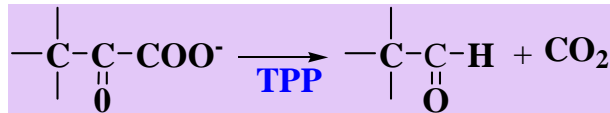


### TPP in the Krebs cycle

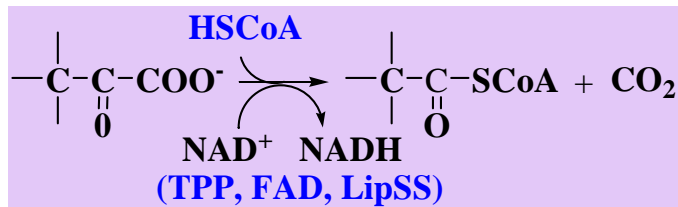


# Décarboxylation des $\alpha$ cétoacides

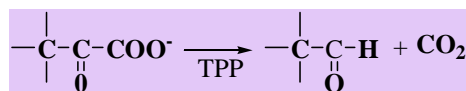
Décarboxylation **non oxydative** ( $\alpha$  cétoacides décarboxylases)



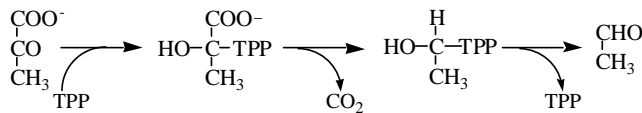
Décarboxylation **oxydative** ( $\alpha$  cétoacides déshydrogénases)



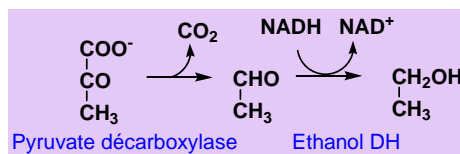
## Décarboxylation **non oxydative** des $\alpha$ cétoacides ( $\alpha$ cétoacides décarboxylases)



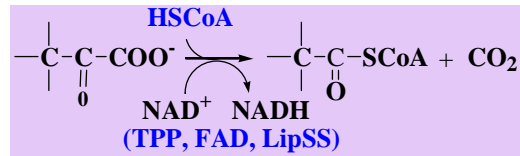
Mécanisme



La seule  $\alpha$  cétoacide décarboxylase importante est la pyruvate décarboxylase qui produit de l'acétaldéhyde ( $\text{CH}_3\text{-CHO}$ ) qui peut être réduit en éthanol (fermentation alcoolique).

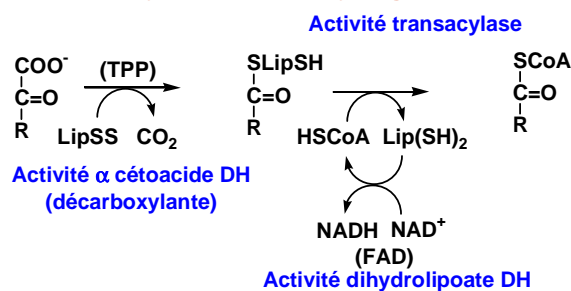


## Décarboxylation oxydative des α cétoacides



La décarboxylation oxydative des α cétoacides fait intervenir successivement trois activités enzymatiques :

- a) une activité α cétoacide déshydrogénase décarboxylante ;
- b) une activité transacylase ;
- c) une activité dihydrolipoate déshydrogénase.

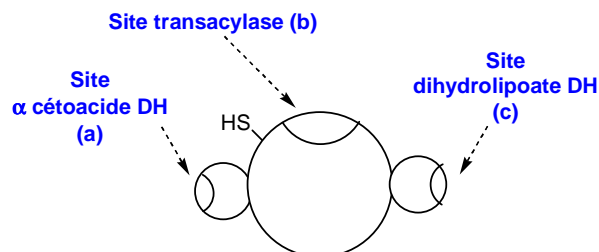


## Complexe multienzymatique α cétoacide déshydrogénase

- La totalité de la décarboxylation oxydative d'un α cétoacide est catalysée par une protéine constituée de 3 types de sous-unités différentes.
- Chacune d'entre elles contient un site actif correspondant à l'une des activités α cétoacide DH, transacylase, dihydrolipoate DH.

### Modèle simplifié

- a) Activité α cétoacide déshydrogénase décarboxylante
- b) Activité transacylase
- c) Activité dihydrolipoate déshydrogénase

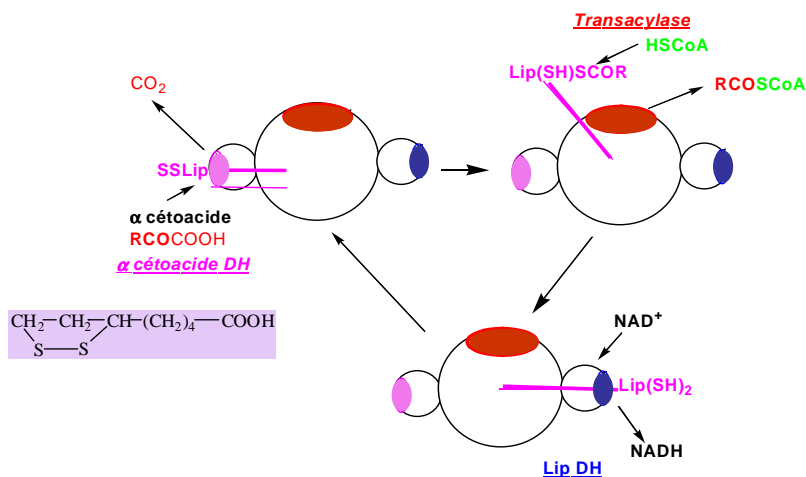


- Le bras « lysine + lipoate » est suffisamment long pour que son extrémité sulfurée puisse aller se fixer par liaison faible sur chacun des 3 sites.



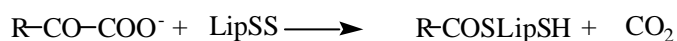
### $\alpha$ cétoacide déshydrogénase : bras tournant

- Au cours d'un cycle catalytique, le bras « tourne » de façon à fixer successivement son extrémité sur chaque site et permettre la suite des réactions correspondantes :

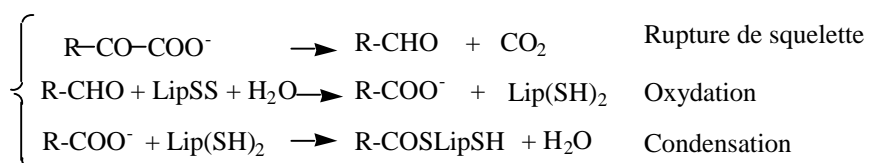


- NB : Le terme « bras tournant » bien que couramment utilisé, ne traduit pas la réalité du phénomène : Par agitation thermique, le bras oscille et vient se fixer sur chaque site.

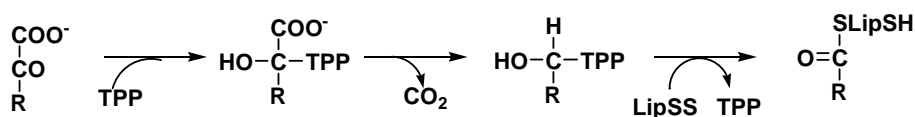
### a) **Activité $\alpha$ cétoacide déshydrogénase décarboxylante**



Cette réaction est le couplage d'une rupture de squelette, d'une oxydation et d'une condensation :



Le TPP agit comme coenzyme activateur. Il se fixe sur le l' $\alpha$  cétoacide et facilite la décarboxylation. Il est alors libéré tandis que le LipSS se réduit et se fixe.



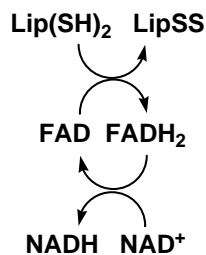


## b) Activité transacylase



*Cette réaction est un simple transfert (hydrolyse condensation).*

## c) Activité dihydrolipoate déshydrogénase



- Le FAD assure l'oxydation du dihydrolipoate.
- Le FADH<sub>2</sub> formé est immédiatement oxydé par le NAD<sup>+</sup>.

**NB :** De nombreuses oxydoréductases ont de même un mécanisme faisant intervenir plusieurs coenzymes red-ox intermédiaires.

## Complexe multienzymatique (suite)

- Les complexes  $\alpha$  cétoacides DH ne sont pas simplement constitués de trois sous-unités associées.
- *Par exemple, la Pyruvate DH d'E. Coli, de masse molaire de 6 millions de daltons, en comporte soixante :*
  - 24 d'entre elles portent un site pyruvate déshydrogénase,
  - 24 autres un site lipoate transacylase,
  - 12 un site lipoate déshydrogénase.
- *Plusieurs molécules de pyruvate peuvent se décarboxyler simultanément.*
- *La pyruvate DH animale est encore plus complexe.*

## Généralité et intérêt des complexes multienzymatiques

- **Un complexe multienzymatique est défini comme une enzyme portant plusieurs sites actifs** (sur la même sous-unité ou sur des sous-unités différentes) tels que le substrat en transformation vient successivement se fixer sur chacun d'entre eux.
- On en trouve de nombreux exemples *in vivo* :
  - Les carboxylases à biotine telles que la pyruvate carboxylase sont en fait des complexes multienzymatiques à bras tournant.
  - L'acide gras synthase qui assure la majorité des réactions de la synthèse des acides gras en est un autre.
  - La tryptophane synthase est un complexe multienzymatique mais n'a pas de bras tournant.
- **Un complexe multienzymatique est plus efficace qu'une série d'enzymes indépendantes :**
- La vitesse à laquelle s'effectue un métabolisme dépend d'une part de l'activité de chacune des enzymes intervenant et d'autre part de la vitesse de diffusion des intermédiaires d'une enzyme à la suivante.
- C'est ce dernier facteur qui est réduit lorsque les sites actifs sont portés par la même protéine.

*NB : Il ne suffit pas qu'une enzyme aie plusieurs sites actifs catalysant des réactions différentes pour qu'elle constitue un complexe multienzymatique. En effet ces sites peuvent être indépendants.*

*Par exemple l'ADN polymérase 1 a un site de polymérisation et deux sites d'hydrolyse de l'ADN.*