

COURS DE METABOLISME

Chapitre 3

Pr C. ZINSOU

COENZYMES ET VITAMINES

1 - INTRODUCTION ET PROPRIETES

2 - LES COENZYMES D'OXYDOREDUCTION

2.1 - COENZYMES NICOTINIQUES OU PYRIDINIQUES

2.1.1 - Propriétés et structure

2.1.2 - Mécanisme de la prise en charge des électrons et des protons

2.1.3 - Equilibre des déshydrogénases à pyridine nucléotides.

2.1.4 - Mécanisme de formation du complexe enzymatique et de la catalyse

2.2 - LES COENZYMES FLAVINIQUES

2.2.1 - Propriétés et structure

2.2.2 - Mécanisme d'action

2.2.3 - Principales flavoprotéines membranaires

2.3 - LES COENZYMES QUINONIQUES : UBIQUINONE ET PLASTOQUINONE

2.4 - LES METALLOPORPHYRINES : CYTOCHROMES ET PEROXYDASES

2.4.1 – Les cytochromes

2.4.2 – Les peroxydases

2.4.3 – Les oxygénases

2.5 – PROTEINES FER-SOUFRE

3 - LES COENZYMES DE TRANSPORT DES RADICAUX MONOCARBONES

3.1 - COENZYME DE TRANSPORT DE CO₂ : LA BIOTINE

3.2 - COENZYMES DE TRANSPORT DE RADICAUX AUTRES QUE CO₂

3.2.1 - S-ADENOSYL METHIONINE

3.2.2 - ACIDES FOLIQUES (Les folates)

4 - COENZYMES DE TRANSPORT DE RADICAUX A DEUX OU PLUSIEURS CARBONES

4.1 - THIAMINE PYROPHOSPHATE

4.3 - LE COENZYME A ou HSCoA

4.3.1 - Activation de l'acétate

4.3.2 - Réaction de carboxylation

NB : Les illustrations sont contenues dans le document de travail.

1 - INTRODUCTION - PROPRIETES

Certaines enzymes fonctionnent avec des coenzymes ou cofacteurs. Les coenzymes ou cofacteurs sont des métabolites non protéique, de faible masse moléculaire comparée à la masse moléculaire des enzymes.

- Ils ont une structure simple.
- Ils agissent à faible concentration et doivent, comme les enzymes, être régénérés à la fin d'une réaction ou d'une séquence de réactions
- Ils sont libres ou associés à l'enzyme.
- ils sont thermostables.

Lorsqu'il est libre, le coenzyme (Co) s'associe au moment de la catalyse à la partie protéique appelée "**apoenzyme**" (E) pour former le complexe fonctionnel apoenzyme-coenzyme (E-Co) appelé **Holoenzyme**. Dans ce cas ces coenzymes prennent le nom de "**coenzymes vrais**" ou **coenzymes cosubstrat**.

D'autres enzymes comportent dans leur structure le coenzyme. Ce dernier est lié à l'apoenzyme par une liaison covalente. Le coenzyme est alors appelé groupement prosthétique de l'enzyme et a un rôle activateur.

C'est sous la forme d'holoenzyme que l'enzyme acquiert une spécificité pour son substrat. Cette spécificité peut être :

- étroite : l'enzyme n'agit que sur un substrat : la glucokinase ne phosphoryle que le glucose
- lâche : l'enzyme intervient sur un groupe de substrats ayant une communauté de structure : l'hexokinase phosphoryle tous les hexoses.

Les coenzymes sont introduits dans l'organisme des mammifères par l'alimentation sous forme de vitamines ou de facteurs de croissance qui sont des composés indispensables au métabolisme, agissant à dose faible, et non synthétisés par l'organisme.

Presque toutes les vitamines hydrosolubles et liposolubles connues sont impliquées dans la structure des coenzymes sauf la vitamine C (hydrosoluble) et la vitamine A (liposoluble).

Les coenzymes ont des fonctions d'accepteurs et de transporteurs de radicaux libérés au cours de la catalyse. Ils fixent et transportent :

- des hydrogènes et des électrons dans les réactions d'oxydoréduction.
- des radicaux autres que l'hydrogène et les électrons dans les autres réactions.

Ils transportent le radical d'un composé A à un composé B. La réaction globale catalysée est la suivante :



La catalyse va comporter les étapes suivantes :

- $A-R + E-Co \longrightarrow A + E-Co-R$ (étape 1 : prise en charge du radical)
- $E-Co-R + B \longrightarrow B-R + E-Co$ (étape 2 : transport sur B)
- $E-Co \longrightarrow E + Co$ (étape 3: dissociation de l'holoenzyme uniquement s'il s'agit d'un coenzyme cosubstrat)

2 - LES COENZYMES D'OXYDORÉDUCTION

Ils participent aux réactions d'oxydoréductions en transportant des atomes d'hydrogène sous forme d'électrons et de protons (NAD^+ , FAD , etc.) ou uniquement des électrons (cytochromes, etc.). On les rencontre dans toutes les réactions d'oxydoréduction cellulaire et dans les séquences de transports d'électrons organisés comme la respiration ou la photosynthèse. Les enzymes qui catalysent les réactions dans lesquelles sont impliqués ces coenzymes sont des déshydrogénases ou des réductases (Voir le chapitre : nomenclature des enzymes et types de réactions). On distingue : les coenzymes nicotiniques ou pyridiniques, les coenzymes flaviniques, les coenzymes quinoniques, les metalloporphyrines et les protéines fer-soufre.

2.1 - COENZYMES NICOTINIQUES OU PYRIDINIQUES

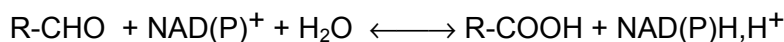
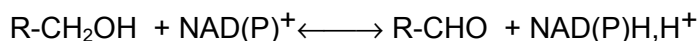
Ces coenzymes ont une répartition universelle puisque toutes les cellules en contiennent. Ils dérivent du nicotinamide ou vitamine PP. Les deux types les plus représentés sont :

- NAD^+ ou Nicotinamide Adénine Dinucléotide
- NADP^+ Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

Les structures des vitamines et des NAD^+ et NADP^+ sont fournies sur la figure 5.

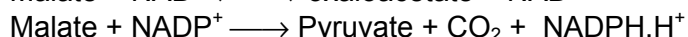
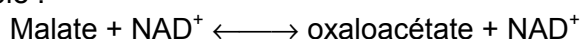
2.1.1 - Propriétés et structure

Ce sont des petites molécules solubles. On en trouve en partie à l'état libre dans les mitochondries, chloroplastes et dans le cytosol. Ils ont le même potentiel rédox ($E^{\circ} = -0,32 \text{ V}$) et interviennent tous les deux dans les réactions d'oxydoréduction de l'alcool vers l'acide carboxylique ou vice-versa. La réaction catalysée est la suivante à partir des alcools primaires:



Tout en ayant le même potentiel d'oxydoréduction ils sont associés à des apoenzymes qui leur sont spécifiques et déterminent les types de réactions catalysées. Le NAD^+ intervient généralement sous forme oxydée et prend en charge les électrons et les protons dans les déshydrogénations cataboliques, autrement dit, NAD^+ intervient dans les systèmes de dégradation ou de catabolisme conduisant à la récupération d'énergie, NADP^+ intervient souvent sous forme réduite (NADPH, H^+) et est associé aux déshydrogénases (réductase) dans les réactions de synthèse. Dans la cellule il y a des déshydrogénases à $\text{NADH, H}^+/\text{NAD}^+$ et des déshydrogénases à $\text{NADPH, H}^+/\text{NADP}^+$ bien que certaines acceptent les deux. Ces deux couples sont rarement interchangeable car les produits peuvent être très différents.

Exemple :



Ces deux réactions sont catalysées par 2 malate déshydrogénases.

2.1.2 - Mécanisme de la prise en charge des électrons et des protons

Le site réactif du coenzyme se situe au niveau du noyau pyridine et les étapes de réaction sont les suivantes (figure 5) :

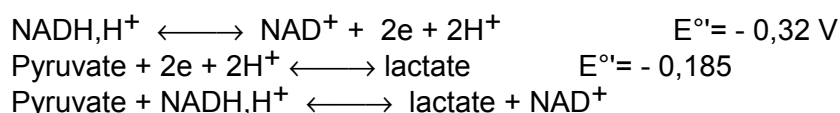
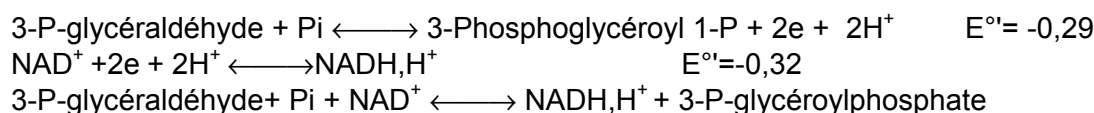
- Le premier électron neutralise la charge positive sur l'azote quaternaire, le second neutralise un proton qu'il transforme en H qui se fixe sur le carbone 4. Il reste un proton qui accompagne la molécule réduite d'où l'écriture NADH,H⁺ et NADPH,H⁺.

- Sous forme oxydée ces coenzymes n'ont qu'une seule bande d'absorption à 260 nm, due au noyau adénine

- La réduction de NAD⁺ ou NADP⁺ s'accompagne d'une modification caractéristique de leur spectre d'absorption. Lorsqu'ils sont réduits sous la forme NADH,H⁺ ou NADPH,H⁺ il apparaît une bande supplémentaire à 340 nm (due à la réduction du noyau pyridine). L'absorbance lue à cette longueur d'onde permet d'évaluer la proportion de NAD(P)SH,H⁺ présent dans la solution. Cette propriété est utilisée pour leur dosage ou pour le dosage des composés dont les réductions ou oxydations leur sont couplées.

2.1.3 - Equilibre des déshydrogénases à pyridine nucléotides.

Les couples NAD⁺/NADH,H⁺ et NADP⁺/NADPH,H⁺ ont un E° de - 0,32 V. Les systèmes qui ont un potentiel E° plus élevé ou très proche auront tendance à accepter les électrons de leurs formes réduites NADH,H⁺ ou NADPH,H⁺. Voici quelques exemples :



2.1.4 - Mécanisme de formation du complexe enzymatique et de la catalyse

Le NAD⁺ se fixe d'abord sur l'apoenzyme pour former l'holoenzyme. Ce dernier fixe ensuite le substrat pour former un complexe ternaire au niveau duquel se font les échanges des électrons et des protons. Les étapes sont les suivantes :

- $\text{E} + \text{NAD}^+ \longleftrightarrow \text{E-NAD}^+$ (holoenzyme)
- $\text{E-NAD}^+ + \text{SH}_2 \longleftrightarrow \text{H}_2\text{S-E-NAD}^+$ (Complexe ternaire)
- $\text{H}_2\text{S-E-NAD}^+ \longleftrightarrow \text{S-E-NADH,H}^+$ (Echange des électrons et des protons)
- $\text{S-E-NADH,H}^+ \longrightarrow \text{E-NADH,H}^+ + \text{S}$ (Libération du produit)
- $\text{E-NADH,H}^+ \longrightarrow \text{E} + \text{NADH,H}^+$ (Dissociation de l'holoenzyme)

2.2 - LES COENZYMES FLAVINIQUES

Ces coenzymes sont des composés hydrosolubles, de couleur jaune. Ils dérivent de la vitamine B₂ ou riboflavine. On distingue :

- la flavine mononucléotide (FMN) qui est l'ester phosphorique en 5' de la riboflavine. Elle est membranaire et intervient dans le transport d'électrons dans la chaîne respiratoire;

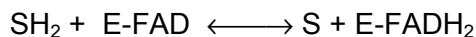
- et la flavine Adénine nucléotide (FAD), cytosolique, qui comporte un 2^e nucléoside uni au premier par une liaison pyrophosphate.

FMN et FAD sont des coenzymes d'une cinquantaine d'enzymes répandues dans toutes les cellules vivantes.

2.2.1 - Propriétés et structure

Les coenzymes flaviniques sont liés à leur apoenzyme par une liaison covalente. L'ensemble a la structure d'holoenzyme. On les appelle encore flavoprotéines. Les coenzymes constituent les groupements prosthétiques de ces enzymes. La partie réactive

du FAD et du FMN qui participe à l'oxydoréduction est le noyau diméthylisoalloxazine de la riboflavine. Le potentiel redox de la flavine est variable en fonction de l'apoenzyme à laquelle elle est fixée. Les déshydrogénases flaviniques catalysent les réactions responsables de la formation ou de la réduction des doubles liaisons. Les réactions dans lesquelles elles sont impliquées sont du type :



2.2.2 - Mécanisme d'action

Le noyau isoalloxazine comporte 2 doubles liaisons conjuguées capables de fixer réversiblement deux atomes d'hydrogène. La forme oxydée présente une bande d'absorption à 450 nm alors que la forme réduite n'en présente pas. Ces déshydrogénases peuvent recevoir des hydrogènes des coenzymes nicotiniques. On distingue les flavoprotéines membranaires, non auto-oxydables, à structure complexe, et les flavoprotéines auto-oxydables cytoplasmiques qui peuvent transférer l'hydrogène directement à l'oxygène avec formation de peroxydes d'oxygène. Pour le transport des électrons et des protons elles ont besoin parfois des ions comme le fer et le molybdène. Les principales flavoprotéines impliquées dans le métabolisme énergétique de la cellule figurent dans le tableau ci-dessous. (Voir mécanisme sur la figure 6).

2.2.3 - Principales flavoprotéines membranaires

| Flavoprotéines | Dénomination | Coenzymes |
|-------------------------------------|--------------------|-----------|
| NADH,H ⁺ -déshydrogénase | (FP ₁) | FMN |
| Succinate déshydrogénase | (FP ₂) | FAD |
| Dihydrolipoyl déshydrogénase | | FAD |
| AcylCoA déshydrogénase | (FP ₃) | FAD |
| Glycérol 3-@déshydrogénase | (FP ₄) | FAD |

2.3 - LES COENZYMES QUINONIQUES : UBIQUINONE ET PLASTOQUINONE

L'ubiquinone, encore appelée **coenzyme Q₁₀** est un coenzyme liposoluble transporteur d'hydrogènes à partir des substrats organiques vers l'oxygène dans la chaîne respiratoire mitochondriale. Elle n'a pas une origine vitaminique et peut être synthétisée par toutes les cellules. Elle n'est pas attachée à une protéine et peut circuler librement dans la couche phospholipidique de la membrane mitochondriale interne. Son potentiel redox **E°' = + 0,1 V**.

Actuellement plusieurs coenzymes quinoniques sont connus. Ils diffèrent par la longueur de leur chaîne latérale constituée de n radicaux isoprène polymérisés. Le nombre n est égal à 10 chez l'Ubiquinone d'où le nom de coenzyme Q₁₀. Dans les végétaux il y a des quinones appelées plastoquinones qui jouent un rôle équivalent dans les transports d'électrons photosynthétiques. E°' = + 0,1V. L'ubiquinone (forme oxydée) a une bande d'absorption caractéristique entre 270 et 290 nm qui disparaît quand la quinone est réduite.

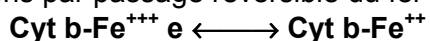
Les quinones possèdent deux fonctions quinones qui, par réduction, sont transformées en di-hydroquinone par acceptation de 2 électrons et de 2 protons libérés par le substrat. (Voir figure 7).

2.4 - LES METALLOPORPHYRINES : CYTOCHROMES ET PEROXYDASES

Les métalloporphyrines sont de véritables groupements prosthétiques liés à leur apoenzyme respective par des liaisons covalentes. Les métalloporphyrines résultent de l'union, sous forme de complexe, d'un atome de fer et d'une porphyrine (dérivé par substitution du noyau tétrapyrrolique). On les rencontre dans les cytochromes et dans les peroxydases. On distingue :

2.4.1 - Les cytochromes

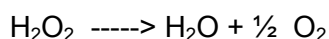
Ce sont des chromoprotéines présentes dans toutes les cellules, dans la membrane interne des mitochondries, dans la membrane thylakoïde des chloroplastes, et dans le cytoplasme. Le groupement prosthétique ferroporphyrinique est le même (Voir figure 9). Seules les apoenzymes qui leur sont solidement accrochées par liaisons covalentes sont différentes (avec des masses moléculaires allant de 13 000 à 250 000) et leur confèrent des potentiels redox différents. Ils ont un rôle de transport séquentiel des électrons grâce au changement de valence du fer. Dans les mitochondries des cellules animales et végétales et dans les chloroplastes on a isolé et identifié un grand nombre de cytochromes fonctionnant tous sur le même principe. C'est le fer du groupement prosthétique qui transporte les électrons par passage réversible du fer ferrique en fer ferreux (figure 9) :



Lors du transport des électrons l'ordre d'intervention des cytochromes est déterminé par leur potentiel redox.

2.4.2 - Les catalases et les peroxydases

Ce sont aussi des chromoprotéines dans lesquelles le fer reste toujours sous forme ferrique et ne change pas de valence. Elles contiennent 4 groupements hématiniques et souvent du cuivre. Les catalases catalysent la décomposition de l'eau oxygénée ou peroxyde d'hydrogène :



* Les peroxydases oxydent certains substrats à partir d'un peroxyde comme l'eau oxygénée.

2.4.3 - Les oxygénases

Ces métalloprotéines catalysent l'incorporation d'un atome (monooxygénases) ou d'une molécule d'oxygène (dioxygénase) sur un substrat. Certaines sont des cuproprotéines et ferroprotéines (fer non hématinique). Un exemple est donné par la tyrosine oxygénase et la dopamine β hydroxylase qui participe à la formation de la noradrénaline dans la médullo-surrénale.

2.5 - Protéines fer-Soufre

Ces protéines fer-Soufre interviennent dans les séquences de transport des électrons aussi bien dans la chaîne respiratoire que dans la photosynthèse. Le fer est non hémique et le soufre sous forme sulfure. Le fer et le soufre sont en quantité équimoléculaire. L'apoprotéine est liée au fer par l'intermédiaire des cystéines. La figure donne un exemple de la partie non protéique de ces protéines Fer-Soufre. Ces protéines fer-soufre se comportent comme des sous-unités de complexe protéique. Le transport des électrons se fait encore par changement de valence de fer passant réversiblement du fer ferrique au fer ferreux.

3 - LES COENZYMES DE TRANSPORT DES RADICAUX MONOCARBONES

Les radicaux monocarbonés susceptibles d'être transportés par leurs coenzymes spécifiques sont : CO_2 , $-\text{CH}_3$, $-\text{CHO}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, etc. Nous ne verrons que quelques coenzymes fréquemment rencontrés dans ce cours du métabolisme.

3.1 - COENZYME DE TRANSPORT DE CO_2 : LA BIOTINE

Le CO_2 est la forme la plus oxydée du carbone. Il se forme abondamment dans la cellule suite à l'oxydation des carbones terminaux d'une molécule organique en particulier sous l'action des déshydrogénases. La dernière réaction est une réaction de décarboxylation spontanée chez les acides organiques ayant une fonction cétone en position β (carbone 3). La décarboxylation est une réaction courante dans les cellules animales et végétales. La réaction inverse, la carboxylation, est moins fréquente et nécessite de l'énergie et un transporteur. On peut citer la carboxylation du pyruvate et de l'acétyl-CoA, nécessaire à la néoglucogenèse et la synthèse de acides gras. Une réaction de carboxylation qui occupe une place prépondérante dans le métabolisme des végétaux chlorophylliens est celle du ribulose-1,5-bisphosphate qui est à l'origine de la synthèse des glucides à partir du CO_2 . Deux coenzymes servent de transporteurs, la biotine pour les petites molécules et la vit K pour les protéines.

3.1.1 - La biotine ou vit H

La biotine est un coenzyme qui est réuni à l'apoenzyme par une liaison covalente amide (entre $-\text{COOH}$ de la chaîne latérale de la biotine et $-\text{NH}_2$ d'une lysine de l'apoenzyme) à un résidu lysine (figure 8). Elle est formée de 2 hétérocycles accolés dont l'un contient 2 atomes d'azote et l'autre un atome de soufre. Elle sert de coenzyme à la **pyruvate carboxylase**, une enzyme importante du métabolisme des glucides. La réaction se déroule en deux étapes :

- 1) $\text{E-biotine} + \text{ATP} + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{E-biotine-CO}_2 + \text{ADP} + \text{Pi}$
- 2) $\text{CH}_3\text{-CO-COOH} + \text{E-biotine-CO}_2 \longrightarrow \text{HOOC-CH}_2\text{-CO-COOH} + \text{E-Biotine}$

Elle sert aussi de transporteur à l'**Acétyl-CoA carboxylase**, une autre enzyme capitale dans la synthèse des acides gras.

- 1) $\text{E-biotine} + \text{ATP} + \text{CO}_2 \longrightarrow \text{E-biotine-CO}_2 + \text{ADP} + \text{Pi}$
- 2) $\text{CH}_3\text{-CO-SCoA} + \text{E-biotine-CO}_2 \longrightarrow \text{E-Biotine} + \text{HOOC-CH}_2\text{-CO-SCoA}$

3.1.2 - Vit K (pour mémoire)

Les vitamines K sont synthétisées par les végétaux et par des bactéries hébergées dans le tube digestif. Elles sont liposolubles et dérivent toutes du noyau naphthoquinone. Ces vitamines entrent dans la synthèse des coenzymes des protéines carboxylases. Ces enzymes réalisent, au cours de la post-traduction, des carboxylations en formant des résidus carboxyglutamiques, utiles à l'activation des protéines et facteurs impliqués dans la coagulation du sang.

3.2 - COENZYMES DE TRANSPORT DE RADICAUX AUTRES QUE CO₂

3.2.1 - S-ADENOSYL METHIONINE

Ce coenzyme, dérive de la méthionine, acide aminé indispensable, apporté dans l'alimentation. C'est la forme active de transport et de fixation du radical méthyle (-CH₃). Il est donneur de méthyle dans les réactions catalysées par le groupe de méthyltransférases qui fixent des groupements méthyles aux accepteurs convenables comme

- les acides nucléiques
- les protéines
- les colamines pour former les cholines
- la nicotinamide pour former le méthylnicotinamide, forme d'élimination de cette vitamine.

La perte du méthyle transforme le cofacteur en S-ADENOSYL-HOMOCYSTEINE.

Exemple

Ethanolamine + 3 S-adénosylméthionine → Choline + 3 S-adénosylhomocystéine

3.2.2 - ACIDES FOLIQUES (Les folates)

En fait les acides foliques sont nombreux et sont rencontrés principalement dans les feuilles. Ils contiennent deux noyaux que ne peuvent synthétiser les animaux et certains microorganismes. Il s'agit des noyaux ptérine et le radical p-aminobenzoïque. Associés à leur apoenzyme l'ensemble constitue les ptéroprotéines (figure 8).

L'acide tétrahydrofolique (THFou FH₄) est la forme activée et fonctionne comme cofacteur de nombreux systèmes enzymatiques de transfert de radicaux à un carbone autre que le CO₂. Le radical méthyle est transporté sur l'azote 5 qui peut être transféré ensuite sur la désoxyribo-uridine pour former la désoxythymidine. Le coenzyme peut transporter aussi le groupement formyl sur l'azote N10 suivant la formule ci-dessus : La synthèse du noyau purique et des acides nucléiques dépend des réactions de transformylation (transport de -CHO).

4 - COENZYMES DE TRANSPORT DE RADICAUX A DEUX OU PLUSIEURS CARBONES

Il s'agit des coenzymes chargés de transporter les radicaux ACYLE, ALDEHYDYLE, CARBOXYLE, etc. Nous étudierons essentiellement 3 coenzymes importants compte tenu de leur implication dans le métabolisme énergétique des glucides. Leur ordre d'intervention dans la transformation du pyruvate en acétyl-CoA va permettre d'illustrer la notion de séquence de réactions et celle du complexe multi-enzymatique..

4.1 - THIAMINE PYROPHOSPHATE

Ce coenzyme (groupement prosthétique) dérive de la thiamine (vit B1). La thiamine est formée dans de très nombreuses bactéries et végétaux. Il contient un noyau pyrimidique et un noyau imidazole (figure 8).

Il sert de coenzyme à des enzymes libérant des radicaux R-CO- à partir de molécules carbonées plus complexes et les transfèrent sur d'autres coenzymes ou substrats. Il intervient particulièrement dans la décarboxylation oxydative des acides α-cétoniques en particulier le pyruvate et l'α-cétoglutarate. Le type des enzymes est la **pyruvate déshydrogénase et l'α-cétoglutarate déshydrogénase**. Le mode d'action est le suivant (figure10) :

1- L'acide α -cétonique est fixé sur le carbone 2 du noyau imidazole par sa fonction cétonique (prise en charge du substrat) ;

2 - l'enzyme effectue le départ du CO_2 . Le radical obtenu est transféré sur le lipoate, coenzyme groupement prosthétique de l'enzyme lipoamide

La thiamine pyrophosphate intervient comme coenzyme accepteur de radicaux dans les réactions de transcétoylation (Voie des pentoses phosphates et cycle de Calvin). Dans ce cas c'est le radical $-\text{CO}-\text{CH}_2\text{OH}$ qui est transporté sur le ribose 5-P.

4.2 - ACIDE LIPOÏQUE ET LIPOAMIDE

L'acide lipoïque est un acide gras à 8 atomes de carbone qui a un pont disulfure entre les carbones 6 et 8 (figure 8). Il est solidement lié à son apoenzyme. L'holoenzyme formée prend alors le nom de lipoamide.

Comme annoncé précédemment Il sert d'accepteur de radicaux alcyles cédés par la thiamine pyrophosphate (figure 10). Dans le cas des réactions partant du pyruvate ou de l' α -cétooglutarate, le radical transporté est un acétyle ou un succinyle. L'enzyme responsable du transport de ces radicaux sur le lipoate est la pyruvate DH ou l' α -cétooglutarate DH. Le lipoate n'est pas l'accepteur final des radicaux acyles. Une deuxième enzyme intervient, une acyltransférase, (dihydrolipoyl-acyltransférase) qui transfère le radical acétyle ou succinyle sur le coenzyme A. Le lipoate est réoxydé par la dihydrolipoyl déshydrogénase à FAD qui transfère à la fin les électrons et les protons arrachés au pyruvate ou à l' α -cétooglutarate sur NAD^+ .

4.3 - LE COENZYME A ou HSCoA

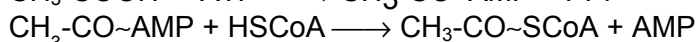
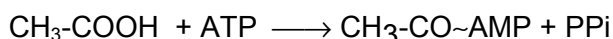
Ce coenzyme existe dans toutes les cellules. Il sert d'activateur des acides gras dans les réactions de dégradations. Il joue en même temps le rôle de transporteur de radical acyle $\text{R}-\text{CO}-$. Il est capable de les rendre solubles dans le cytoplasme. Sa structure présente une analogie avec un dinucléotide (figure 8). Elle résulte de l'union de

- l'adénosine 5'-diphosphate
- de l'acide pantothénique, qui est le facteur vitaminique (non synthétisé par les animaux)
- et de la mercaptoéthylamine.

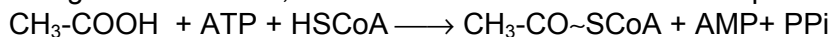
La fixation du radical sur la fonction thiol produit la formation d'un thioester à haut potentiel énergétique $\text{R}-\text{CO}-\text{SCoA}$. Les réactions d'activation dans lesquelles intervient le Coenzyme A sont les suivantes :

4.3.1 - Activation de l'acétate et des acides gras

La formation directe de l'acétyl-CoA à partir de l'acétate n'est pas courante chez les animaux. Par contre elle se produit chez les bactéries et les végétaux avec consommation d'une molécule d'ATP (avec consommation de deux liaisons phosphates riches en énergie). Sous l'action de l'acétylthiokinase ou de l'acétyl-CoA synthétase (qui n'existe pas chez les animaux) on a :

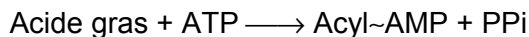


La réaction globale est donc, en additionnant les deux réactions précédentes :

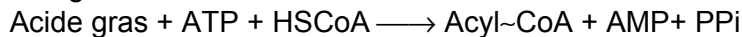


Chez les animaux les acétyl-CoA sont formés au cours de la β -oxydation des acides gras, ou à l'issue de la déshydrogénation du pyruvate.

Les cellules animales forment des acyl~CoA (réaction d'activation) suivant le même mécanisme et la réaction est catalysée par l'acyl~CoA synthétase.

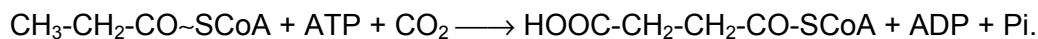
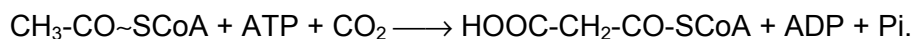


La réaction globale est :



4.3.2 - Réaction de carboxylation

Certaines réactions de carboxylation ne sont possibles que si le composé est lié au coenzyme A, sous forme d'acyl~CoA. Les deux carboxylations importantes impliquant le coenzyme A sont celles de l'Acétyl~CoA pour former du malonyl~CoA et du propionyl~CoA en vue de former du succinyl~CoA. Le CO₂ est apporté par la carboxybiotine.



4.4 – Illustration de notion de séquence de réactions et de complexe multi-enzymatique

Les acides α-cétoniques (R-CO-COOH), dont les plus importants biologiquement sont le pyruvate et α-cétoglutarate, sont oxydés à travers une séquence de réactions

- Catalysées dans l'ordre par 3 enzymes : une α-cétoacide DH proprement dite, une dihydrolipoylacyltransférase, une dihydrolipoyl DH. Ces 3 enzymes font partie d'un complexe, dit complexe multi-enzymatique, désigné par le nom de la première enzyme : exemples : complexe multi-enzymatique de la pyruvate DH, complexe multi-enzymatique de l'α-cétoglutarate DH.
- Où interviennent dans un ordre bien déterminé les coenzymes de transfert des radicaux libérés. Dans le cas présent les 5 coenzymes impliqués sont : TPP, lipoate, HSCoA, FAD et NAD⁺. Ces coenzymes sont indispensables au fonctionnement du complexe multi-enzymatique. L'ordre d'intervention des enzymes et des coenzyme lors de la formation de l'acétyl~CoA à partir du pyruvate est illustré dans le schéma de la figure 10.

5 - COENZYME DES AMINOTRANSFERASES : LE PYRIDOXAL PHOSPHATE

Le pyridoxal phosphate (PLP) est un coenzyme d'une importance capitale. Il est commun à toutes les aminotransférases. Il intervient dans les réactions de transamination aussi bien de dégradation que de synthèse des acides aminés. C'est un groupement prosthétique qui est relié à son apoenzyme par liaison covalente avec laquelle elle forme une base de Schiff, imine aromatique. Lors de la catalyse il forme aussi une base de Schiff avec l'acide aminé. Sa structure dérive de la vitamine B6 comprenant la pyridoxine, la pyridoxamine, le pyridoxal et le pyridoxal phosphate. Le coenzyme actif est le pyridoxal phosphate.

La spécificité de l'activité enzymatique est déterminée par l'apoenzyme et peut conduire aux résultats différents. Nous ne citons que 2 exemples :

- Transamination : échange du radical amine entre un acide aminé et un α-cétoacide par l'intermédiaire de la pyridoxamine phosphate.
- : aspartate + α-cétoglutarate \longleftrightarrow oxaloacétate + glutamate.

- Elimination des fonction thiol et amine sur la cystéine
 $\text{HS-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{H}_2\text{S} + \text{NH}_3 + \text{CH}_3\text{-CO-COOH}$