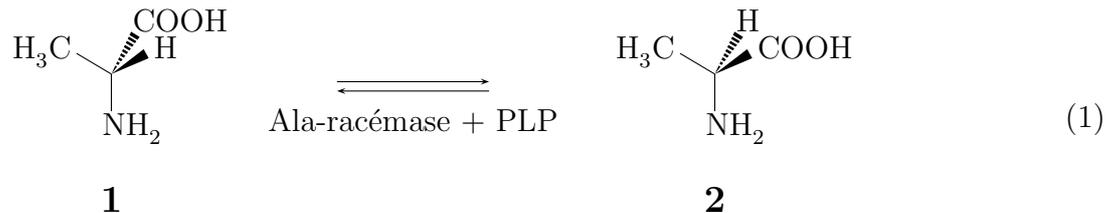


TD 2 : Protéines

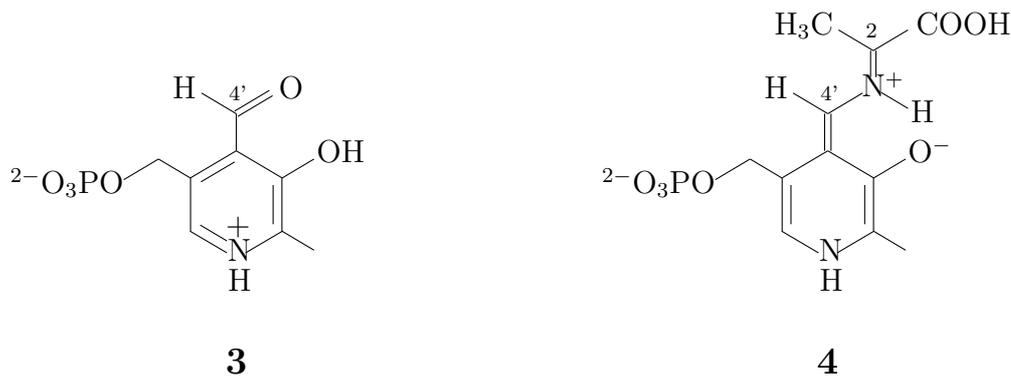
Exercice 1 : Alanine racémase

A-Activité racémase

L'alanine racémase de *Bacillus stearothermophilus* est une enzyme dépendante du PLP (phosphate de pyridoxal **3**). Elle catalyse la transformation réversible de la L-alanine **2** en D-alanine **1**, composant essentiel des peptidoglycanes de la paroi cellulaire bactérienne, selon le schéma 1 :



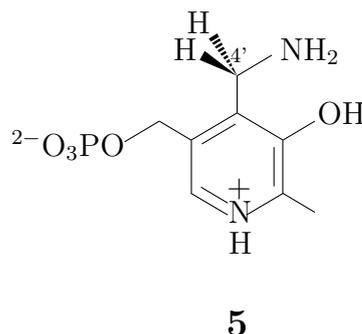
On a pu montrer que le mécanisme de la réaction faisait intervenir les deux résidus lysine-39 et tyrosine-265 du site actif de l'enzyme et impliquait l'intermédiaire quinonique **4**.



1. Quelle est la nature hétérotopique de l'intermédiaire **4** au niveau du carbone 2 ?
2. Proposer un mécanisme probable de la racémisation du D-Ala en L-Ala catalysée par l'alanine racémase en présence de PLP **3** sachant que les deux résidus Lys-39 et Tyr-265 sont situés de part et d'autre du cofacteur.
3. A quoi correspond le numéro associé à chacun des deux résidus Lys et Tyr ? Qu'en conclure quant à la relation entre structure primaire et structure tertiaire d'une protéine ?

B-Activité transaminase

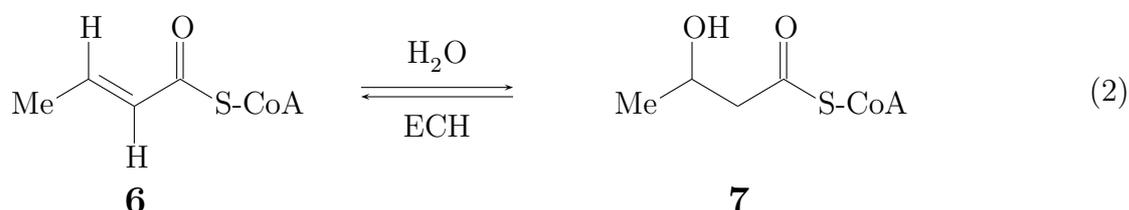
L'alanine racémase catalyse également une réaction secondaire de transamination. Ainsi, la reprotonation de l'intermédiaire **4** au niveau du carbone 4' conduit au PMP (phosphate de pyridoxamine **5**) et à un α -cétoacide **A**.



- Déterminer la structure de **A** en écrivant le mécanisme de sa formation.
- Quelle est la nature hétérotopique de l'intermédiaire **4** au niveau du carbone 4' ?
- De manière à déterminer la stéréochimie de cette réaction de transamination, les auteurs ont incubé l'acide 2-oxo-propanoïque en présence de l'enzyme et du (4'-*R*)-(4'-³H)-PMP (³H = tritium).
- Sachant que la plus grande partie de la radioactivité est retrouvée dans le solvant (eau), conclure quant à la stéréochimie de reprotonation de l'intermédiaire **4**.
- Comment pourrait-on confirmer ce résultat ?

Exercice 2 : Énoyl-CoA hydratase

L'énoyl-CoA hydratase (ECH) catalyse l'hydratation stéréospécifique de thioesters α,β -insaturés du coenzyme A et en particulier du *E*-crotonyl-CoA **6** selon la réaction suivante :



Lorsque l'on incube **6** en présence d'ECH dans D₂O, on obtient le 2-deutério-3-hydroxybutyryl-CoA **7a** de configuration *2R,3S*.

- Dessiner le composé **7a** en tenant compte de la stéréochimie.
- L'addition sur la double liaison est-elle *syn* ou *anti* ?
- Quelle est la face (*Re/Si*) attaquée par l'eau ? (on considérera le carbone C-3 pour la désigner)
- La réaction inverse de la déshydratation effectuée sur le composé **7** redonne le produit **6**. Quel est l'hydrogène (pro *R*/pro *S*) arraché en C-2 lors de cette réaction de déshydratation ?
- Proposer un mécanisme enzymatique catalysant la réaction d'hydratation incluant deux résidus acide glutamique, protonés ou non, et une molécule d'eau. Comment doivent-être disposés ces résidus pour rendre compte de la stéréosélectivité de la réaction d'hydratation ?

Exercice 3 : Catécholamines

L'adrénaline (épinephrine) est produite dans l'organisme humain suivant le schéma réactionnel ci-après.

- L'adrénaline possède-t-elle des sites hétérotopiques ? Si oui, sont-ils énantiotopiques ou diastérotopiques ?
- Le passage de la dopa à la dopamine est réalisé grâce à la participation d'un cofacteur, le phosphate de pyridoxal (PLP). Proposez un mécanisme pour cette réaction.
- La noradrénaline est obtenue par l'introduction stéréosélective d'un groupement hydroxyle en position 2'. Cette introduction a lieu par le remplacement du groupement pro-R de la dopamine. Donnez la stéréochimie de la noradrénaline.
- Proposez un mécanisme pour la transformation de la noradrénaline en adrénaline. Quel est le rôle joué par la molécule d'ATP ?

