

# Chimie bio-inorganique des éléments lourds

- I. Introduction
- II. Enzymes à Mo
- III. Enzymes à W
- IV. Formiate dehydrogenase: enzyme à W ou Mo
- V. Conclusion: Pourquoi Mo et W ?

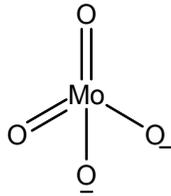
# I. Introduction

## 1. Généralités

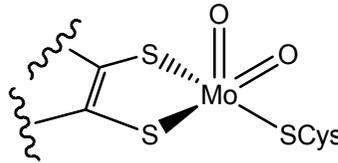
- Rayons atomiques: Mo, W (1.36-1.37 Å),
- Rayons ioniques: 0.62 (Mo<sup>VI</sup>), 0.65 (W<sup>VI</sup>) soit  $\approx$  Fe<sup>III</sup>,  $>$  V<sup>V</sup>, Cr<sup>VII</sup> et  $<$  Co<sup>II</sup>, Ni<sup>II</sup>, Cu<sup>II</sup>, Zn<sup>II</sup>
- Electronégativités: 2.16 – 2.36 selon Pauling (Mo – W) soit  $>$  bloc d première ligne
- Métaux relativement inertes (surtout W)
- $E^\circ(\text{WO}_2/\text{W})$  et  $(\text{WO}_3/\text{WO}_2) < 0 \text{ V}$   
→ Degré ox courants: +2 à +6, seul +4 à +6 dans les systèmes bio

# Géométries et structures électroniques

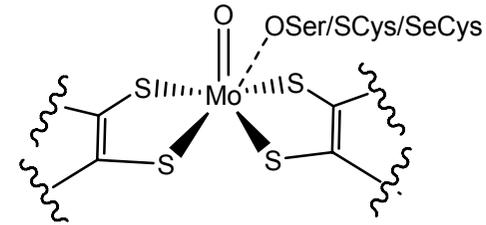
Géométrie du Mo:



Tétraèdre:  $\text{MoO}_4^{2-}$



Pyramide base carrée déformée: Sulfite Oxydase



Octaèdre déformé:  
DMSO réductase

→ Valables pour degrés rédox +IV à +VI

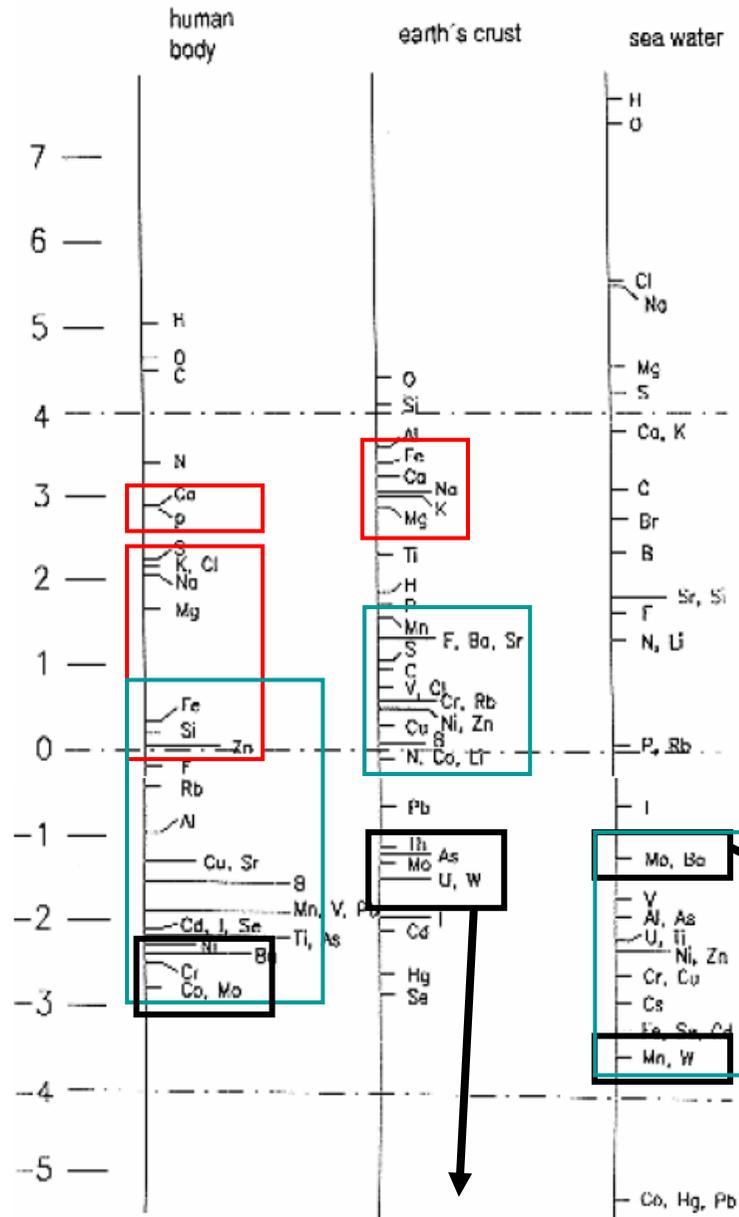
$\text{Mo}^{\text{IV}}$ :  $d^2$ ;  $\text{Mo}^{\text{VI}}$ :  $d^0$   
 $\text{W}^{\text{IV}}$ :  $d^2$ ;  $\text{W}^{\text{VI}}$ :  $d^0$

$d^1$	$d^2$	$d^3$	$d^4$	$d^5$	$d^6$	$d^7$	$d^8$	$d^9$
Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu
Y	Zr	Nb	<b>Mo</b>	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag
La	Hf	Ta	<b>W</b>	Re	Os	Ir	Pt	Au

Seuls bioéléments de la 2eme et 3eme ligne

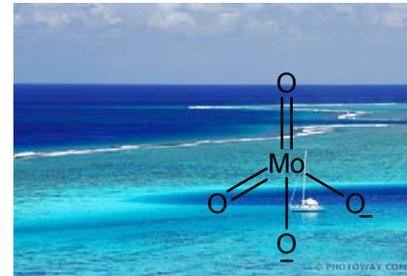
→ W: Le plus lourd des bio-éléments

# Abondance naturelle



Molybdenite (MoS<sub>2</sub>)

Mo soluble



Mo est le plus abondant des métaux de transition dans les océans! Or la vie vient des océans

Mo et W parmi les moins abondants des métaux de transition dans la croûte terrestre!

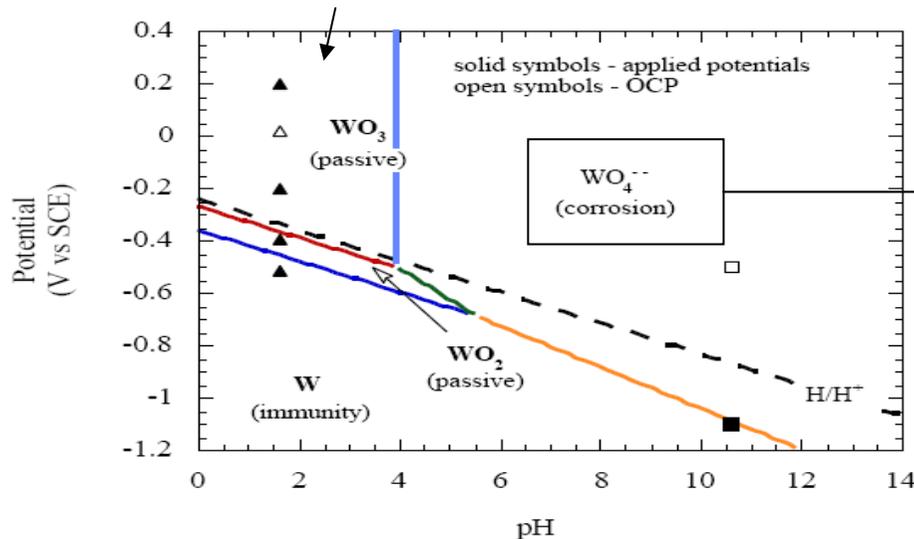
# Biodisponibilité

- A l'origine de la vie : Sulfures de Mo, W peu solubles dans l'eau, donc peu biodisponibles.
- L'atmosphère devient moins réductrice:



Molybdenite  
(MoS<sub>2</sub>)

Forme WO<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>x</sub> en solution acide, peu soluble



Forme **soluble** prédomine sur une **large gamme de potentiel et de pH**

Biodisponible dans les océans

(Oxydes de Mo: [MoO<sub>4</sub>]<sup>2-</sup>, [Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>]<sup>6-</sup>, [Mo<sub>8</sub>O<sub>26</sub>]<sup>4-</sup>...)

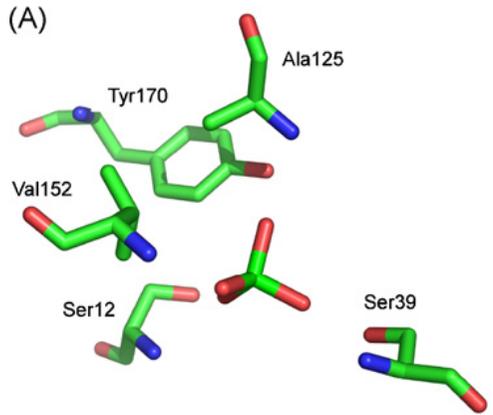
Figure 8 Pourbaix diagram for tungsten. This diagram was calculated for 10<sup>-6</sup> M WO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Plot also displays the potentials at which *in situ* SERS data were collected.



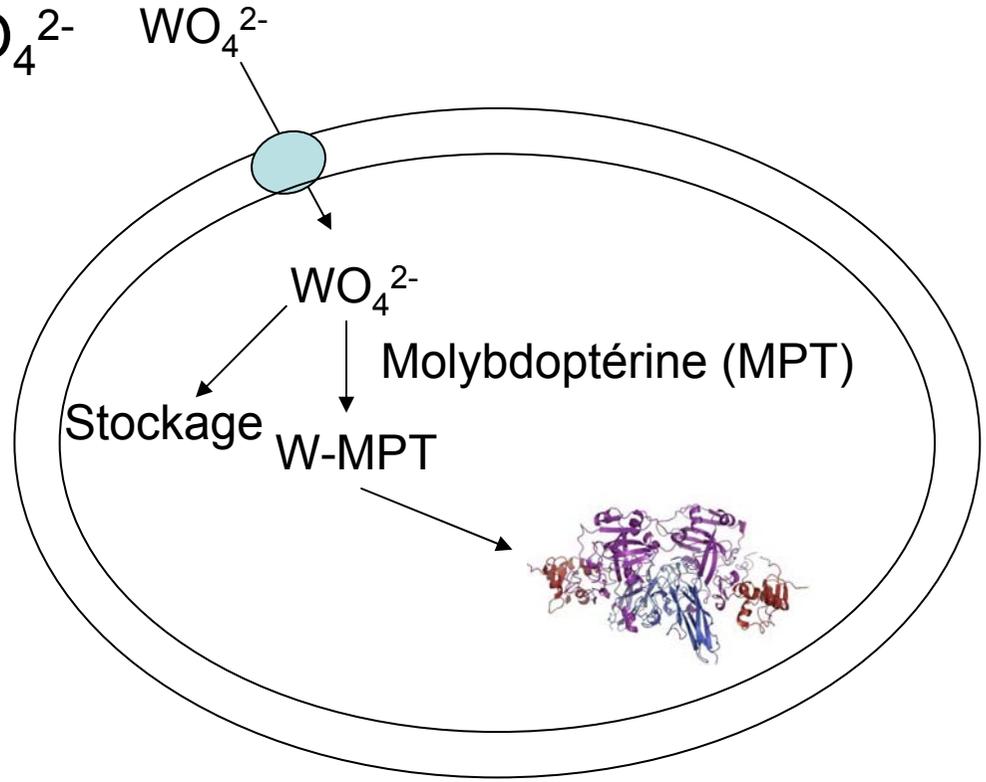
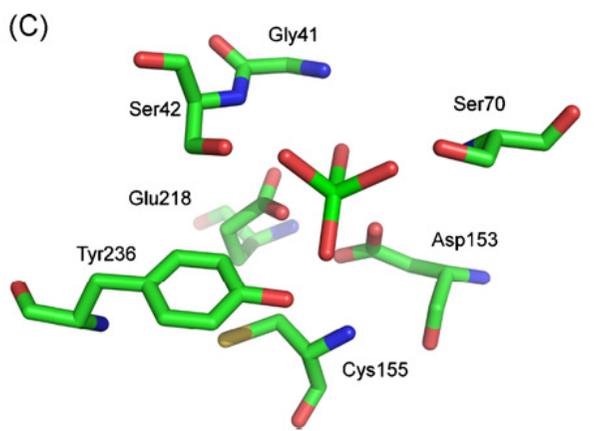
# W incorporé en tant que $WO_4^{2-}$

Site actif d'un transporteur périplasmique

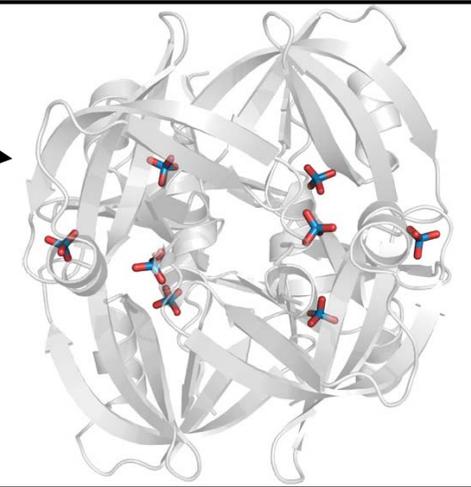
ModA d'*E. Coli*:  $MoO_4^{2-}$



*A. Fulgidus*:  $WO_4^{2-}$



Stockage:  
- Molbindin ( $8 WO_4^{2-}$ )  
- Molybdenum storage (Mo/WSto) (jusqu'à 100 oxydes métalliques)



## 2. W et Mo en biologie

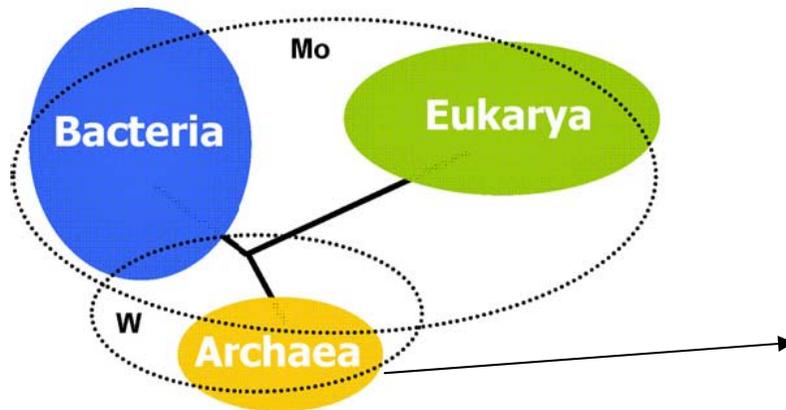
- $\approx 60$  enzymes Mo + W
- Moins présents dans les systèmes biologiques que le fer, cuivre, zinc, calcium ...
- Bactéries: W et Mo pour respiration anaérobie (sur  $\text{NO}_3^-$  par ex)
- Coordination particulière de ces éléments: Ligands dithiolene dans la plupart des cas (sauf nitrogenase).

# Rôles physiologiques des enzymes à Mo/W

- Incorporation ou prélèvement d'oxygène dans des substrats: « Oxo-transférases »
  - Mo impliqués dans les processus de dégradation des purines, et le métabolisme d'acides aminés soufrés ...
- Fixation de l'azote
  - Assimilation du nitrate par les plantes
- Accepteur d'électrons de chaînes respiratoire
- Importance:
  - Mo: oligoélément essentiel pour les animaux, plantes, micro-organismes
  - W: essentiel seulement pour certaines bactéries (majoritairement les thermophiles)

# Où les rencontre-t-on ?

- W: essentiel pour certains organismes, mais pas pour tous (eg. Humains)
- Mo: généralement indispensable, sauf cas particulier (archae: *Pyrococcus Furiosus*)
- Certaines bactéries choisissent entre Mo et W (*Methanobacterium thermoautotrophicum*)
- Certaines bactéries utilisent les 2 pour des fonctions différentes (*Pyrobaculum aerophilum*)



Archae sont les formes de vie les plus primitives: Il semblerait que le Mo ait remplacé le W au cours de l'évolution

# 3. Réactivité

- Chimie des enzymes à molybdène ≈ tungstène
- Appartiennent majoritairement à la classe des Hydroxylases
- Chimie des **oxos** (M=O) et des **degrés d'oxydation supérieurs** (+IV, +V, +VI):

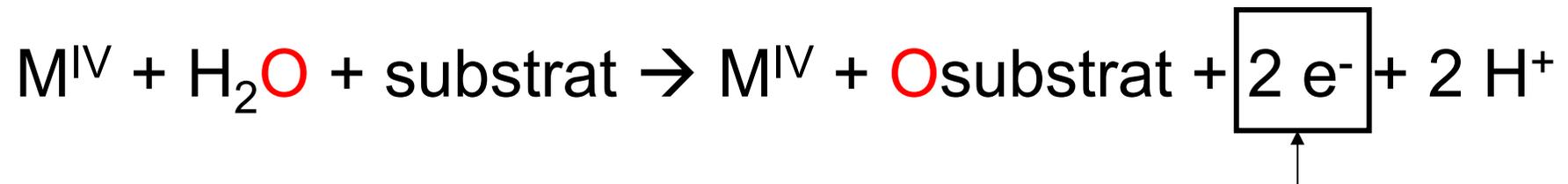
•Enzymes à W, Mo utilisent H<sub>2</sub>O pour les oxydations: Probablement anciennes; Produisent des équivalents réducteurs:



•Enzymes à Fe utilisent O<sub>2</sub> pour les oxydations : Probablement plus récentes; Consomment des équivalents réducteurs:

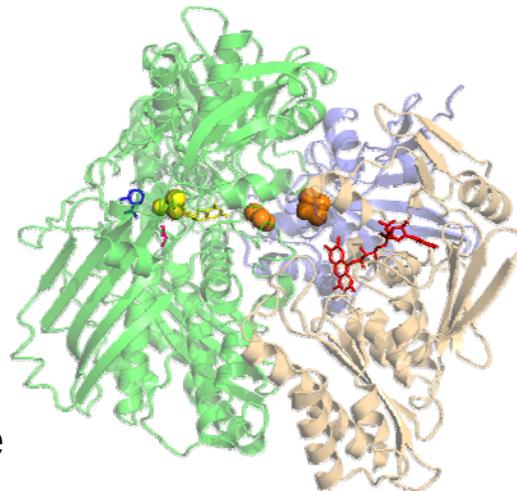


# Transfert d'oxo avec Mo et W

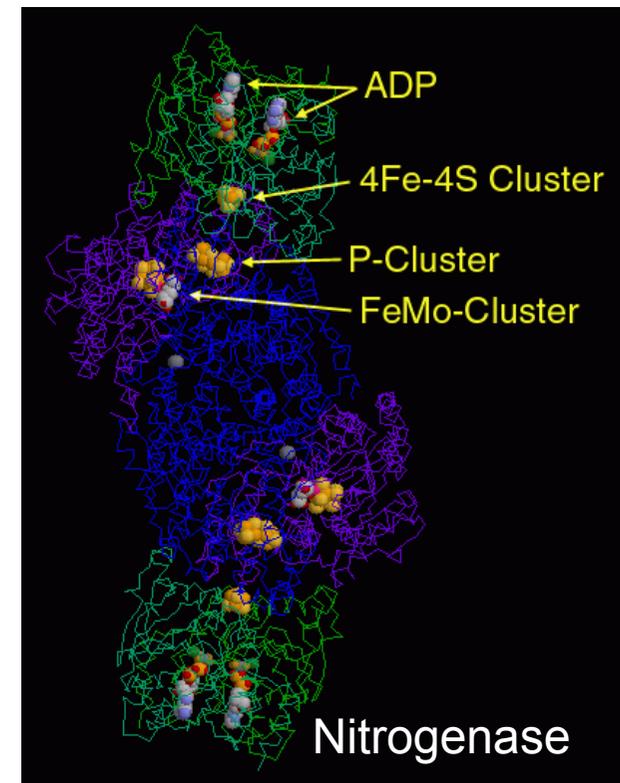


Transfert d'électrons d'où présence de cofacteurs additionnels (FeS, flavines, hèmes ...) au voisinage

- Etape 1:  $M^{IV} + H_2O \rightarrow M^{VI}=O + 2 e^- + 2 H^+$
- Etape 2:  $M^{VI}=O + \text{substrat} \rightarrow M^{IV} + O\text{substrat}$   
(Vue simplifiée pour l'étape 2, en fait passage éventuel par l'état  $M^V$ )



Xanthine oxydase

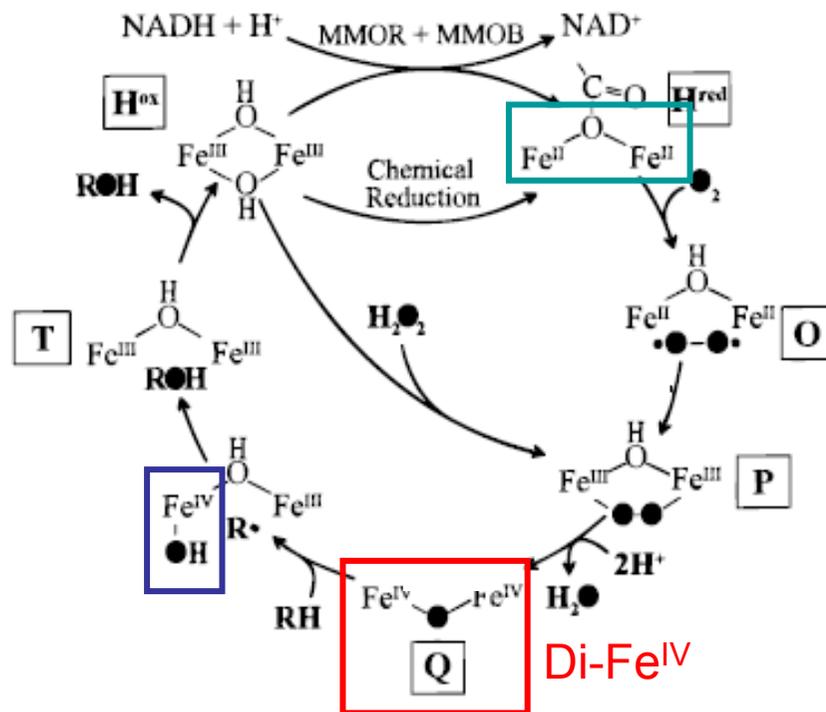




## Rappel: Transfert d'oxygène avec des enzymes à fer:

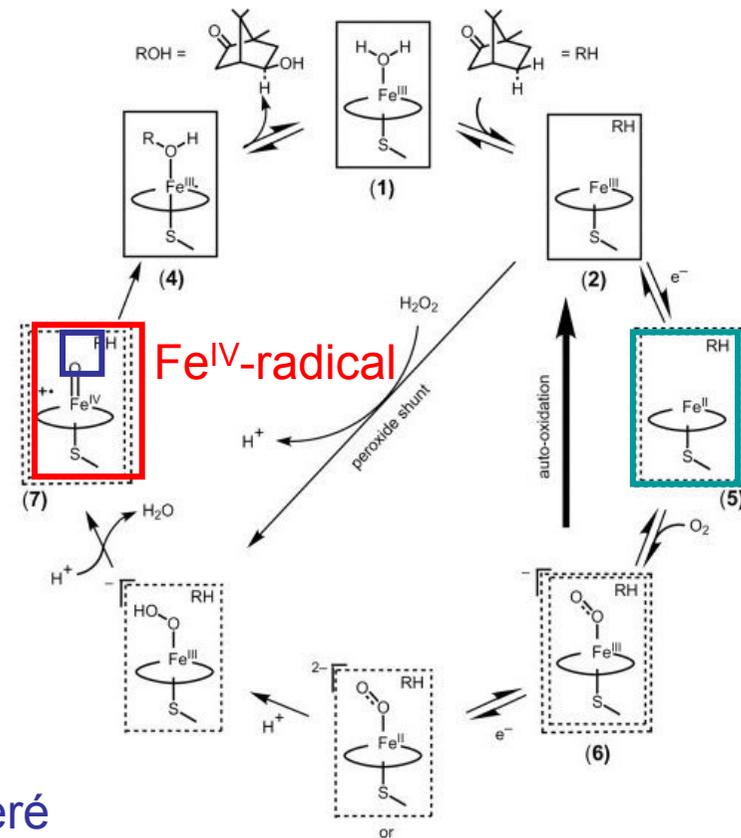
- MMO (centre non hémunique):  
 $\text{CH}_4 + \text{O}_2 + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{OH} + \text{NAD(P)}^+ + \text{H}_2\text{O}$

- Cytochromes P450:  
 $\text{RH} + \text{O}_2 + \text{NAD(P)H} + \text{H}^+ \rightarrow \text{ROH} + \text{NAD(P)}^+ + \text{H}_2\text{O}$



Espèce oxydante

Initiation = métaux réduits    Oxygène transféré



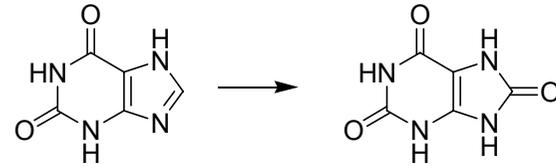
# Grande diversité de substrats et de sens de réaction !



Sulfite oxydase:  $\text{SO}_3^{2-} \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$

Xanthine oxydase: xanthine  $\rightarrow$  acide urique

Aldéhyde oxydoréductase:  $\text{RCHO} \rightarrow \text{RCO}_2\text{H}$

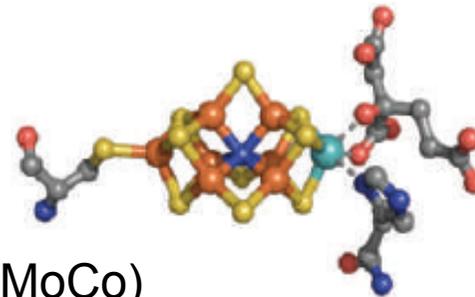
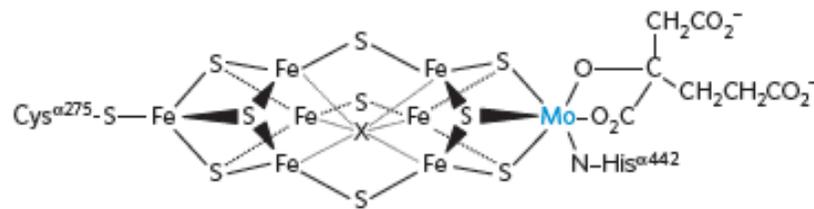


Nitrate réductase:  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$

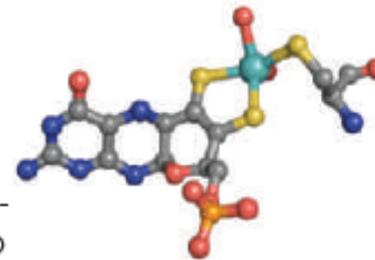
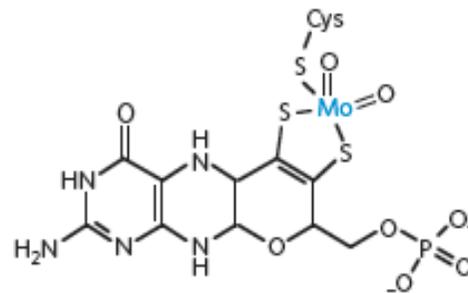
DMSO réductase:  $(\text{CH}_3)_2\text{S}=\text{O} \rightarrow (\text{CH}_3)_2\text{S}$

# 4. Modes de coordination de ces éléments en biologie

- Centres mononucléaires très souvent, sauf ...
- ...sauf nitrogénase (« FeMoCo »)
- Coordination systematique à des cofacteurs particuliers (molybdoptérine « MoCo »)



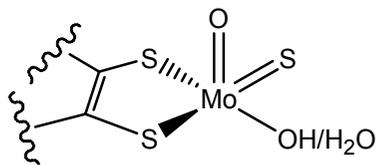
Nitrogénase (FeMoCo)



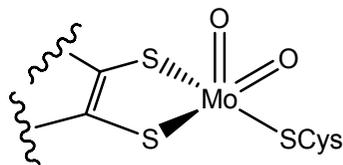
Xanthine Oxydase (MoCo)

- Dans le cas des mononucléaires:
- Coordination du Mo (ou W) à 1 ou 2 molybdoptérines
- Présence de =O ou =S
- Coordination aux acides aminés peu représentée
- Classification des enzymes sur la base du mode de coordination

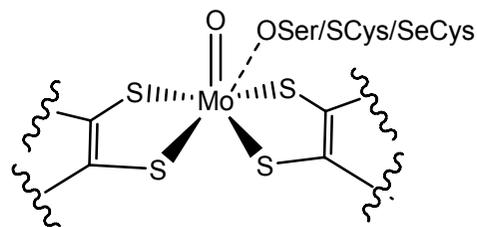
4 classes d'enzymes à Mo ou W:



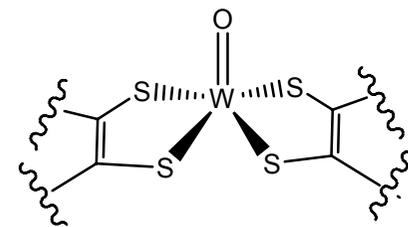
Xanthine Oxydase



Sulfite oxydase

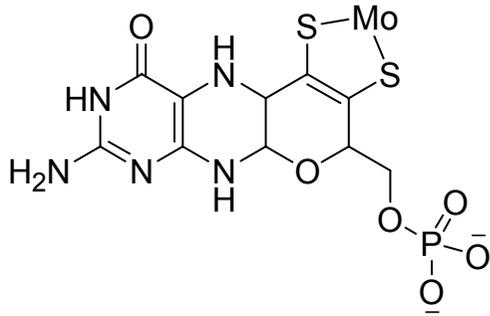


DMSO réductase  
(Formiate  
dehydrogenase)

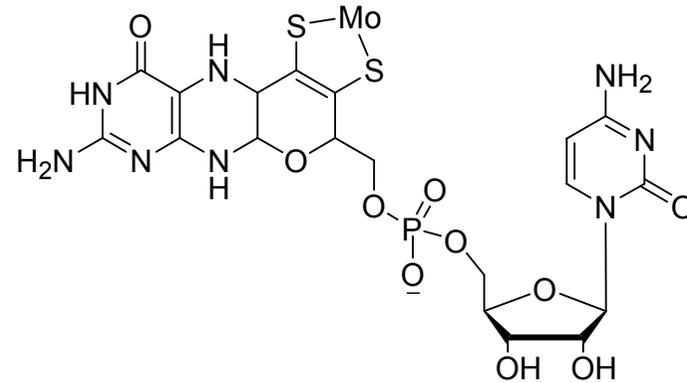


Aldéhyde  
ferredoxine  
oxydoréductase

# Cofacteur ptérine

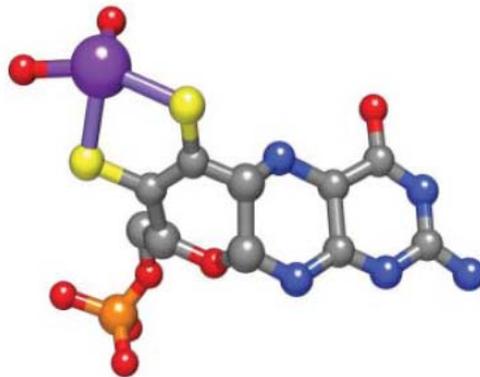


Molybdoptérine monophosphate  
(eucaryotes)

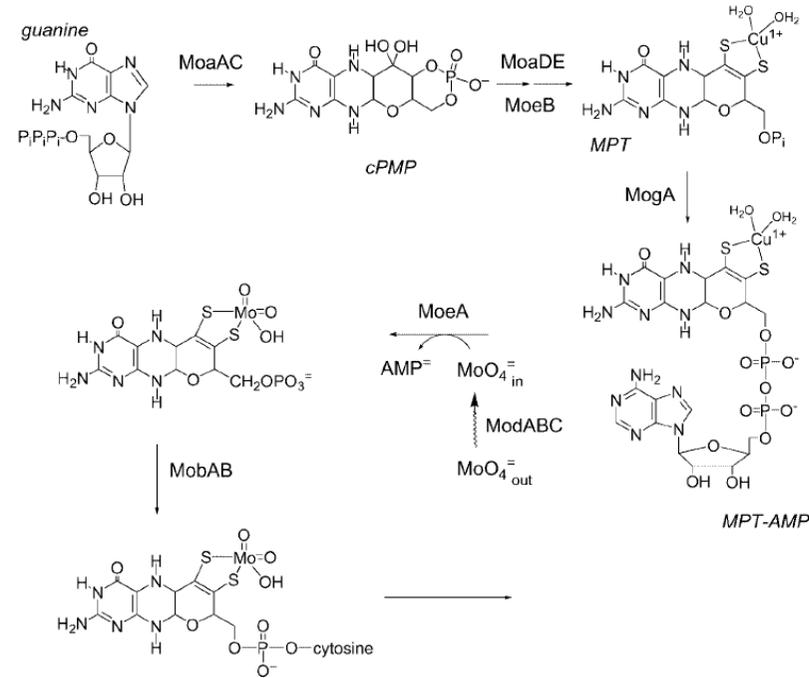


Molybdoptérine cytosine dinucléotide  
ou guanosine dinucléotide  
(procaryote)

Cette différence n'a pas d'influence du point de vue réactionnel



# Biosynthèse du cofacteur



MoaA cPMP synthesis (2x[4Fe-4S])

MoaB carrier/insertion protein

MoaC cPMP synthesis

MoaD MPT synthase  $\alpha$

MoaE MPT synthase  $\beta$

MoeA molybdate insertion into cofactor

MoeB sulfur charging of MPT synthase

MobA pterin dinucleotide synthase  $\alpha$

MobB pterin dinucleotide synthase  $\beta$

ModA periplasmic MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> binding protein

ModB transmembrane channel protein

ModC ATPase

ModD chaperone protein

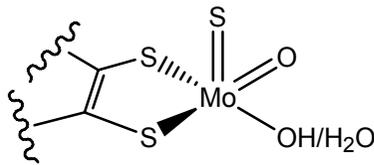
ModE MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-sensitive transcription regulator

MogA MPT-AMP synthase

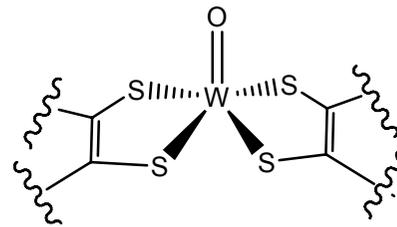
Aba3 sulfido group formation

# Rôle:

- Fixation à la protéine

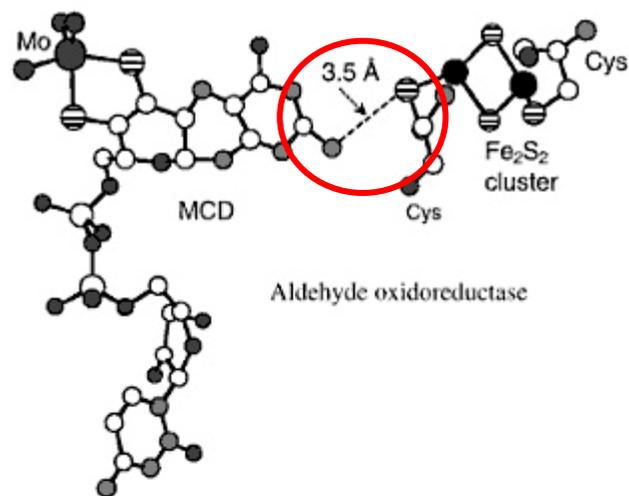


Xanthine Oxydase



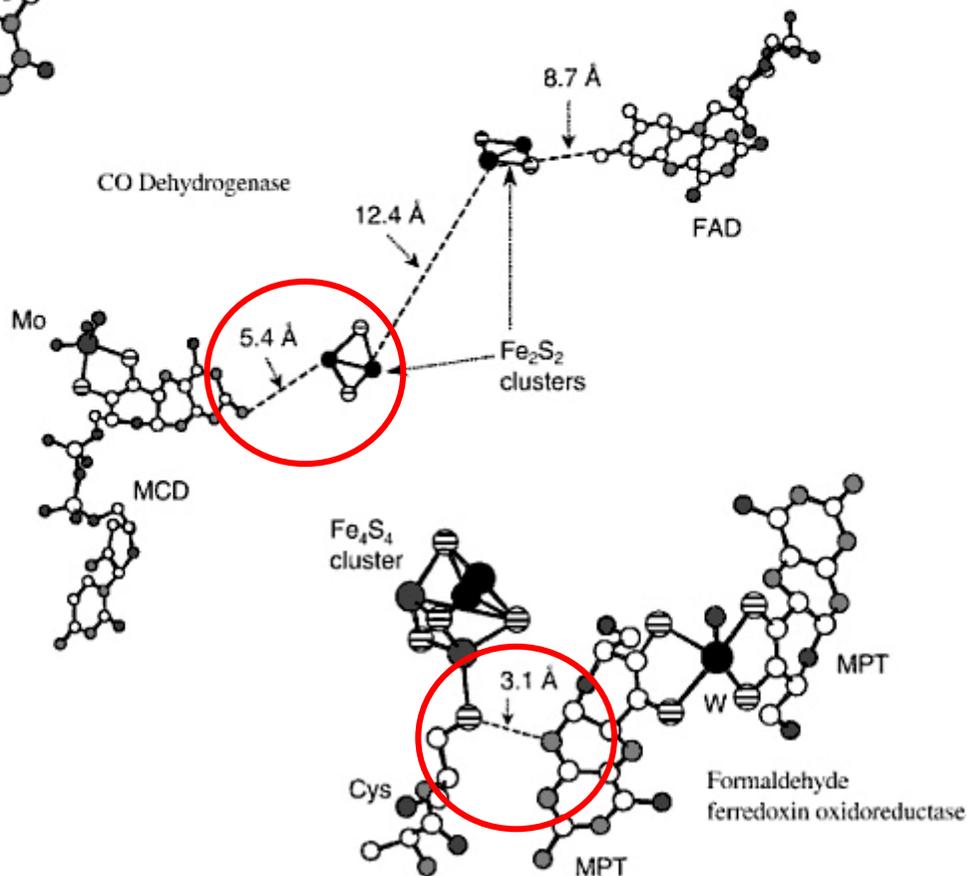
Aldéhyde ferredoxine  
oxydoréductase

- Pas d'acides aminés coordonnés !!!
- Liaisons H entre la protéine et la molybdoptérine permettent de fixer le métal
- Stabilisation de la protéine: Protéines de petite taille dans lesquelles le cofacteur occupe un grand volume
- Modulation du potentiel rédox du métal



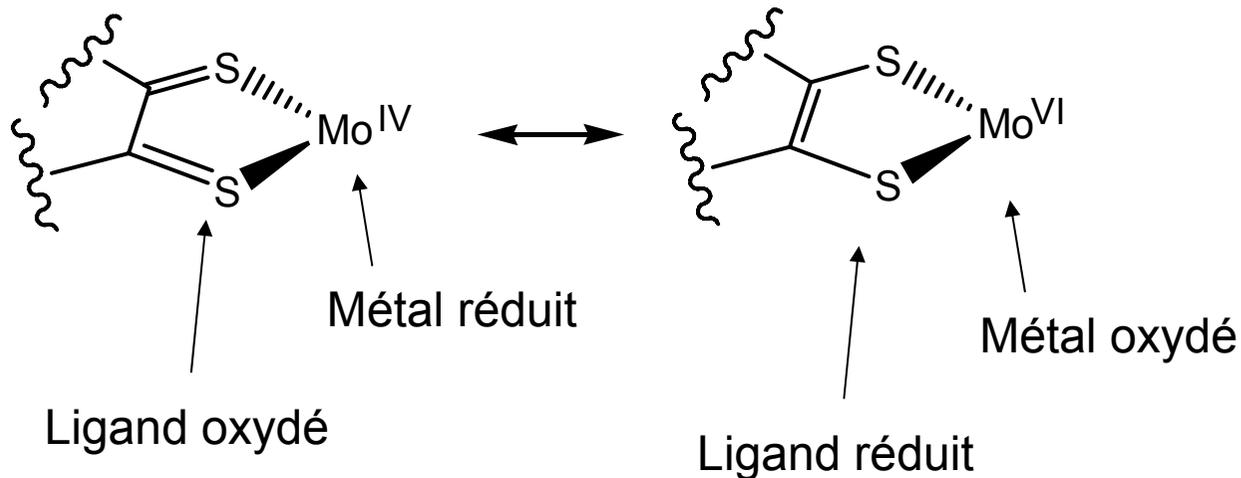
Liaison H avec un centre rédox additionnel souvent observée

→ La ptérine pourrait également servir de relais d'électron entre le métal et un centre accepteur



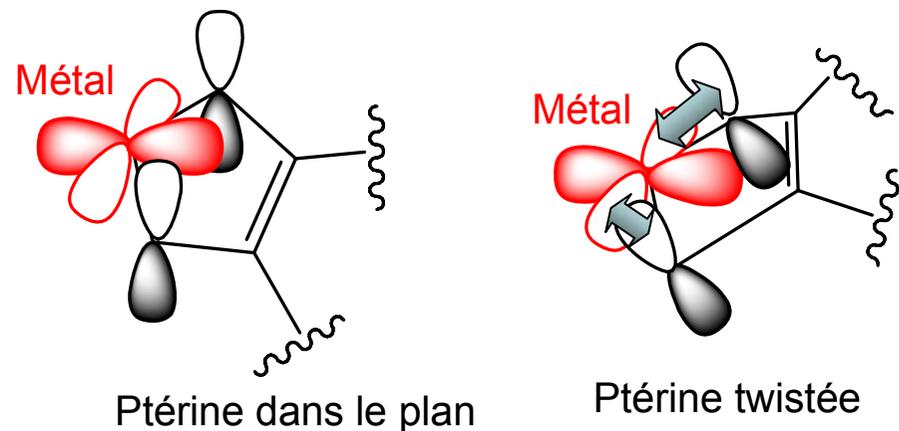
« Progress in inorganic chemistry » (Kenneth D. Karlin, Edward I. Stiefel)

# Relais d'électrons, comment ?



Tautomérisme de valence  $\rightarrow$  Transfert d'électron entre le métal et le ligand

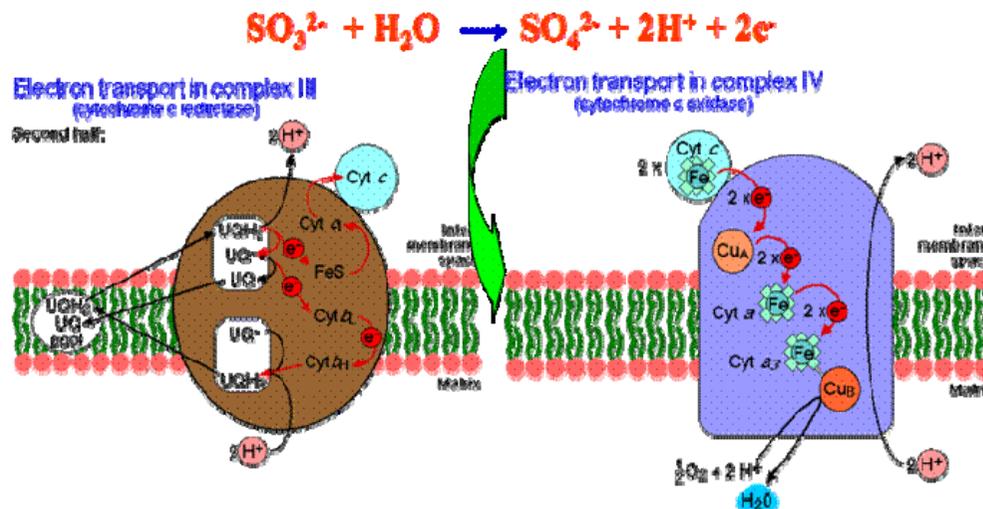
Importance de l'angle de la ptérine:  
Recouvrement maximum des orbitales lorsqu'elle est twistée  
 $d^0$  config: twist important  
(interaction stabilisante entre la  $p\pi$  pleine du soufre et l'orbitale vide du métal dans le plan)  
 $d^2$  config: pas de twist



# II. Enzymes à Mo

## 1. Type Sulfite Oxydase

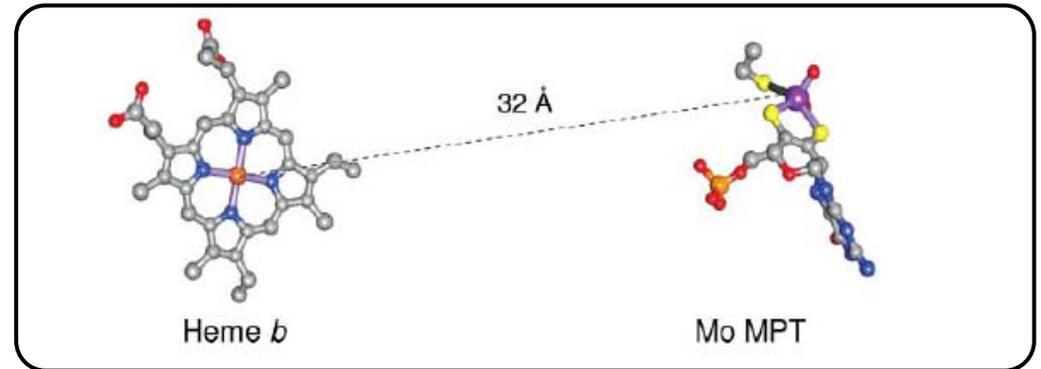
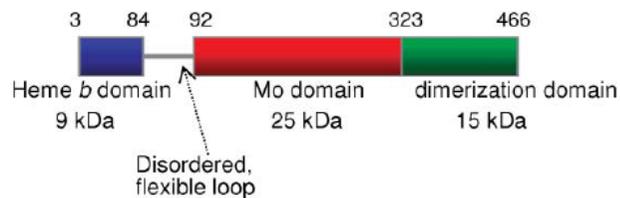
- Chez les animaux, procaryotes (plantes?)
- Rôle physiologique:
  - Dernière étape du métabolisme du soufre avant excrétion (sous forme de sulfate) chez les mammifères.
  - Détoxification
  - Dans les mitochondries: Production d'e<sup>-</sup> (transférés au Cyt c) donc d'énergie aussi



# Structure de la Sulfite Oxydase

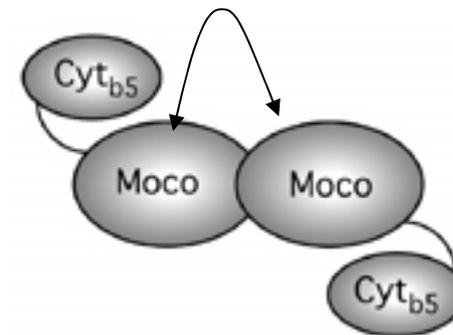


Monomère



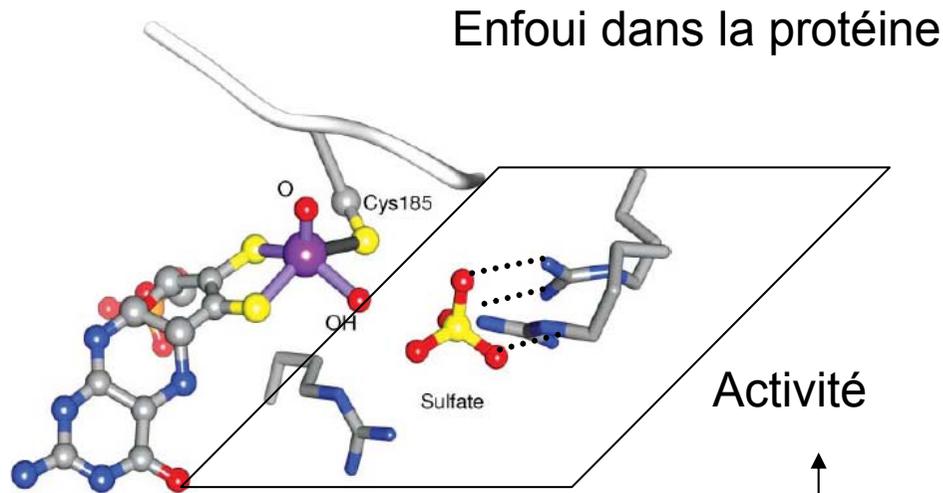
Localisation spatiale des cofacteurs

39 Å entre les 2 Mo

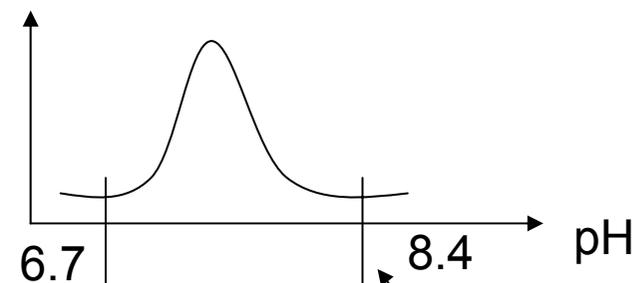


chicken liver  
sulfite oxidase

# Fixation du substrat et site actif

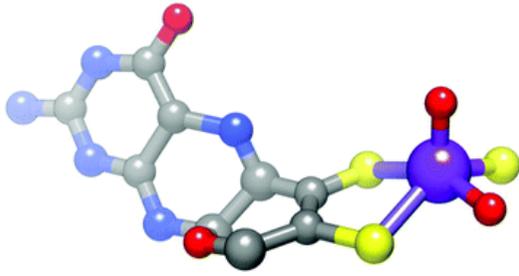


Arg très conservées:  
Cavité chargée positivement:  
Liaisons H pour fixer le  
sulfite/ate



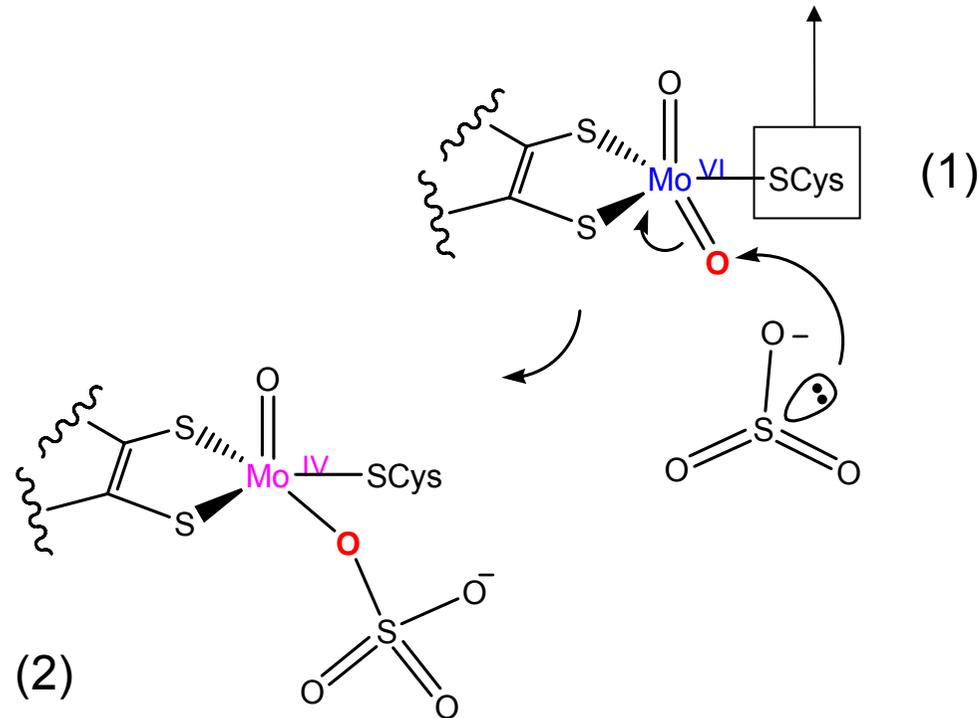
Protonation de HO-Mo

Ionisation d'une tyrosine  
(Tyr322, pKa 9.3) au  
voisinage du Mo qui  
pourrait défavoriser la  
fixation du substrat

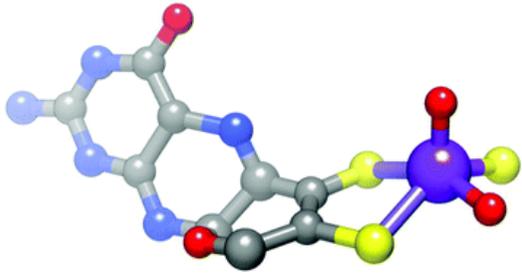


# Mécanisme catalytique

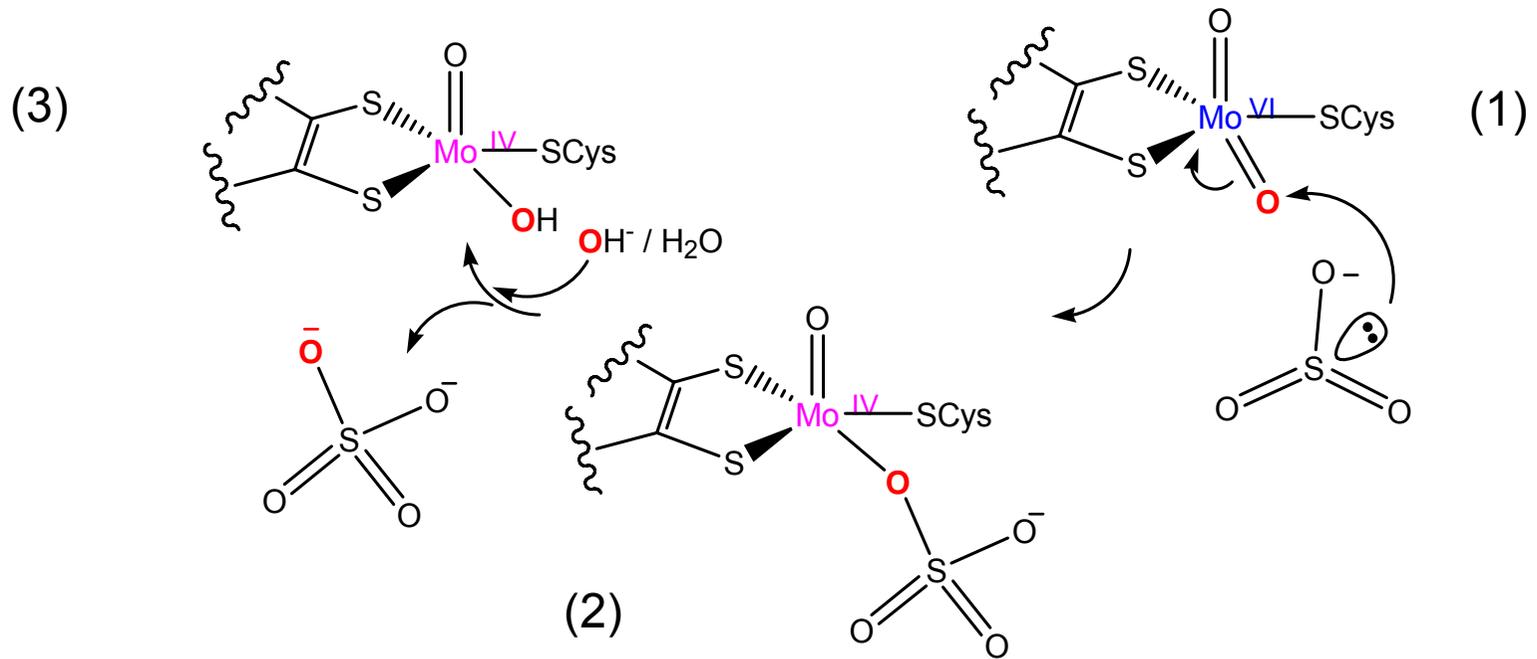
Essentiel même si non impliqué dans le mécanisme



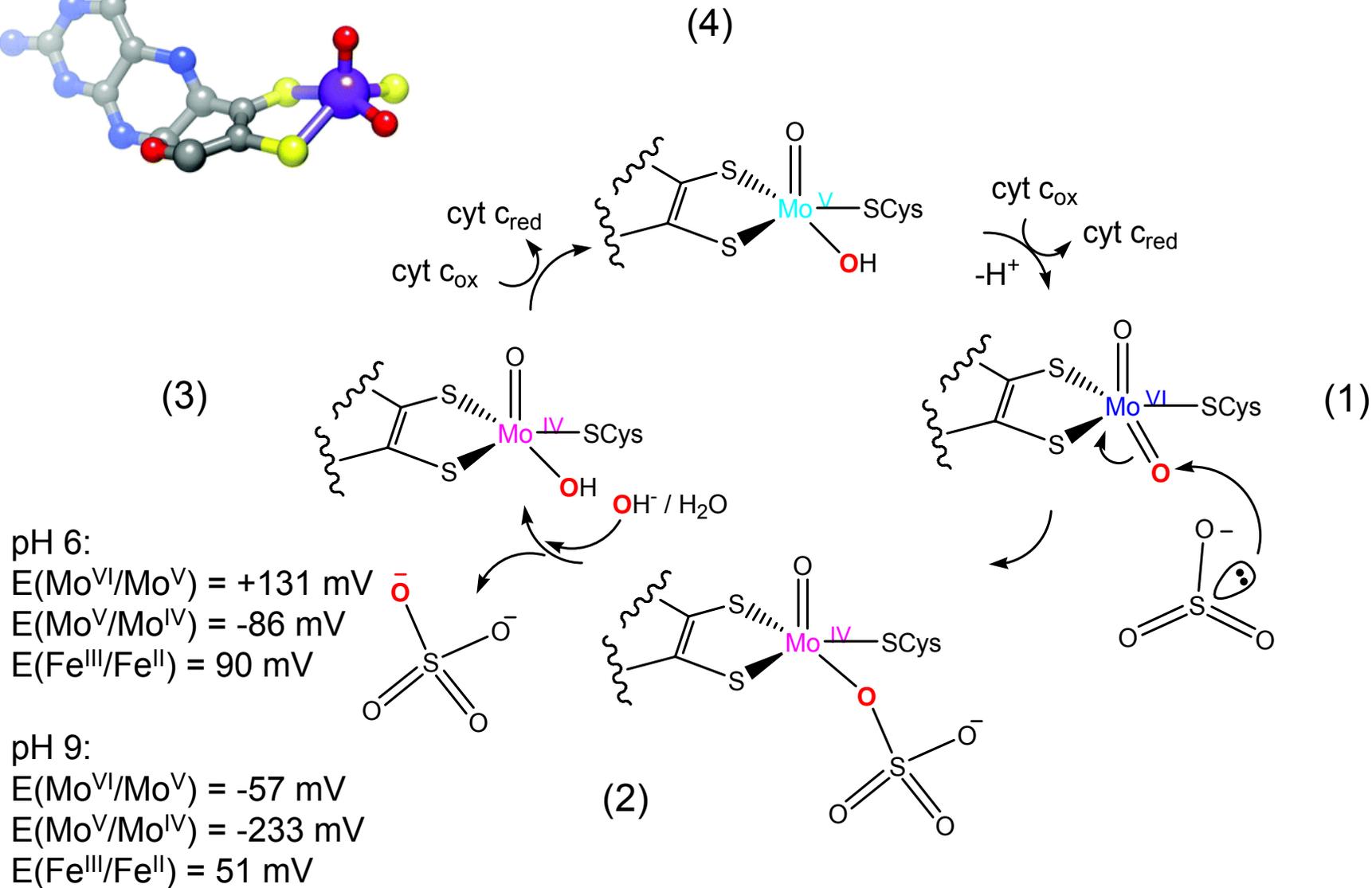
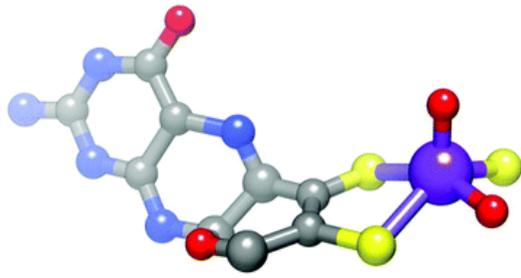
Etape 1-2: Attaque nucléophile du doublet de S sur l'oxo électrophile. Transfert de 2 électrons au métal



(4)

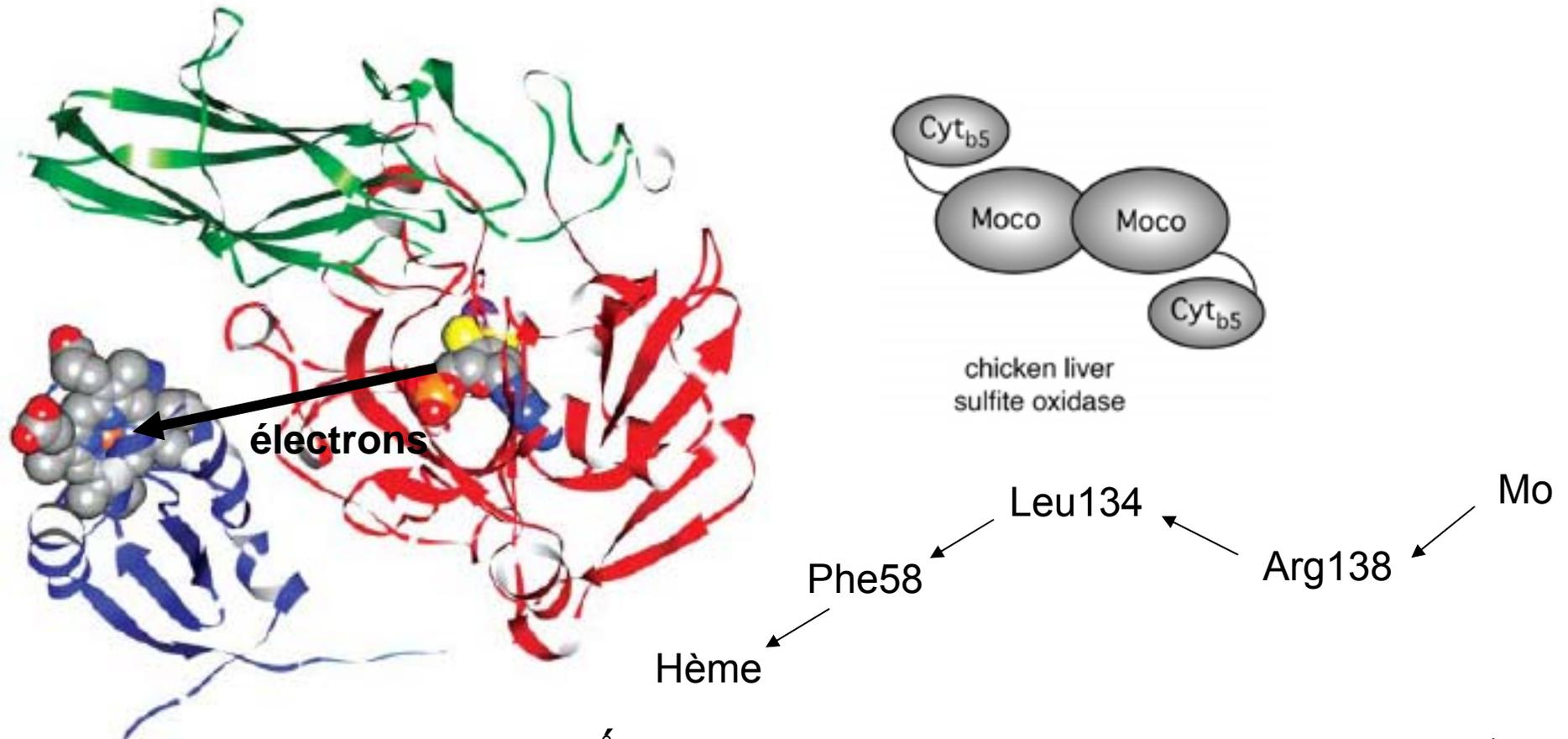


Etape 2-3: Hydrolyse. Un hydroxyde se fixe au métal



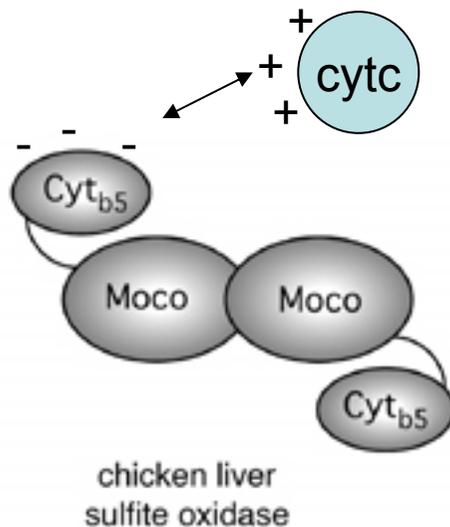
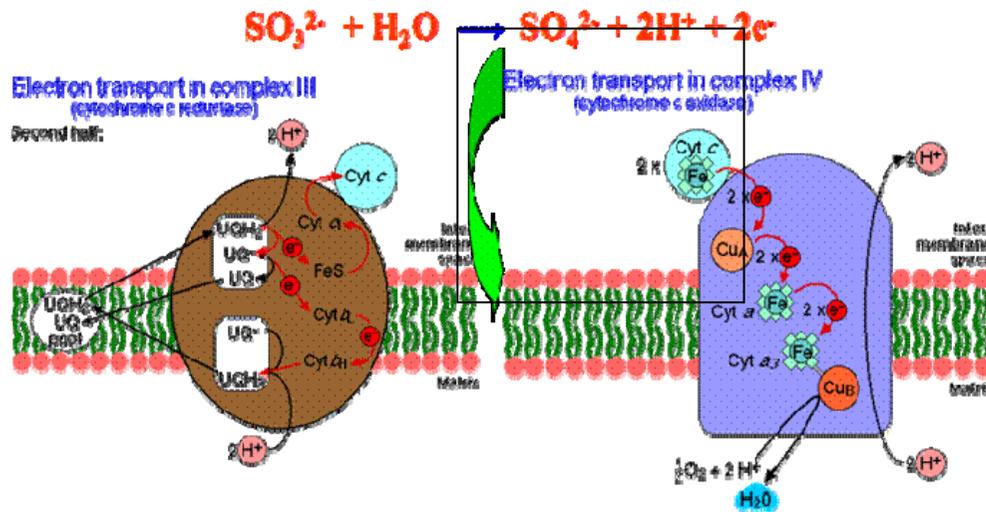
Etape 3-1: Réoxydation par étapes du site actif par le Cyt  $c_{ox}$   
 → Transfert de 2 électrons intra- d'abord puis inter-moléculaire  
 au cytochrome

# Transfert intramoléculaire d'électrons



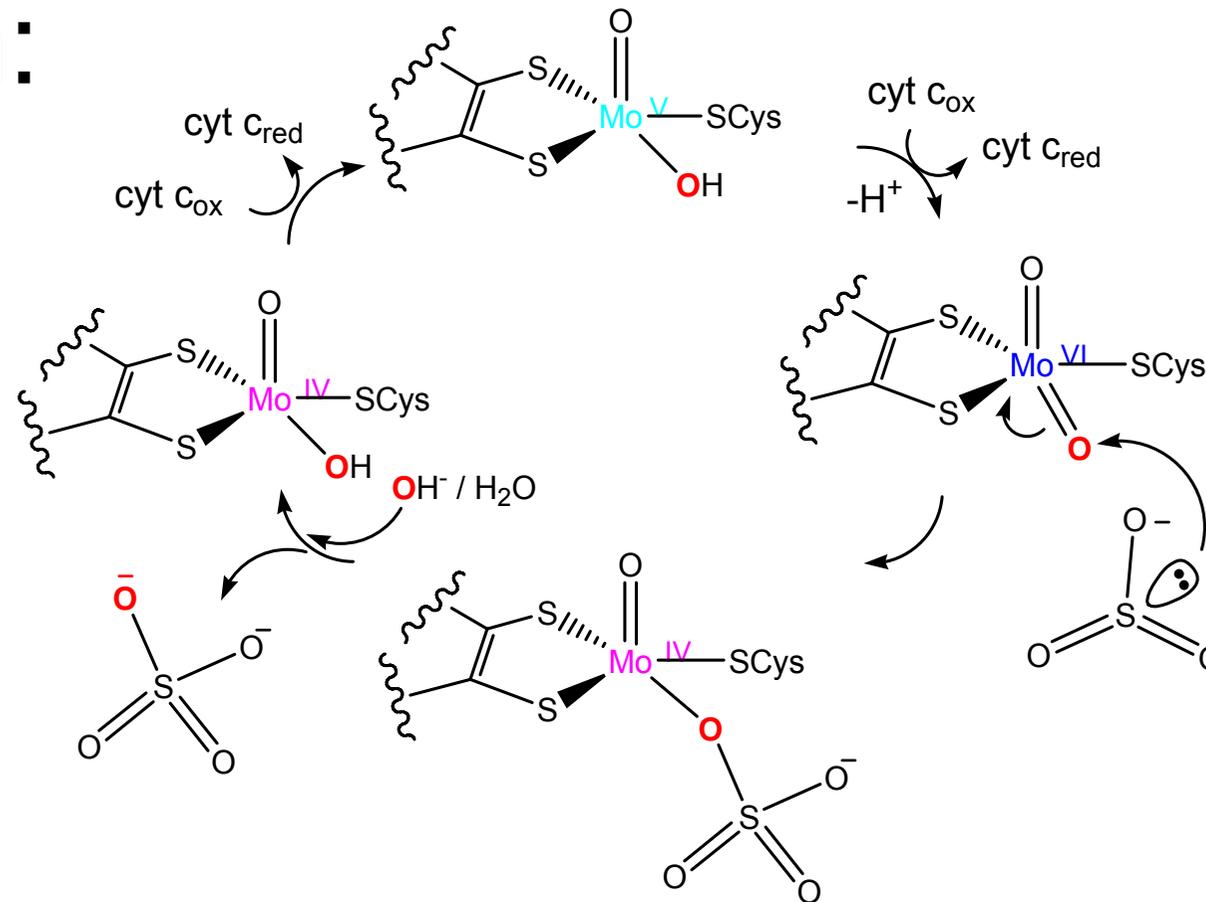
Transfert d'électrons sur 32 Å: Modèles courants arrivent à  $k \leq 100 \text{ s}^{-1}$   
Expérimentalement  $k = 1000 \text{ s}^{-1}$ . 2 modèles pour l'expliquer:  
→ Existence de relais pour accélérer le transfert  
→ Repliement de la protéine (Cyt<sub>b5</sub> plutôt chargé -, canal plutôt chargé +)

# Transfert intermoléculaire d'électrons



Cyt<sub>b5</sub>: Tyr62, Glu67, Asp45  
 Cyt<sub>c</sub>: Lys13, Lys27, Lys72, Lys86

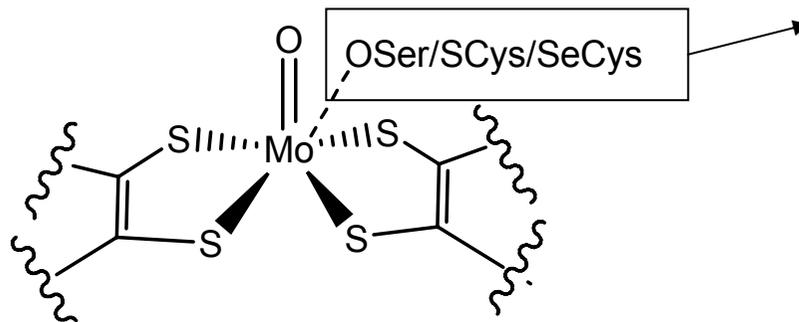
# Bilan:



- Sens de l'oxydation
- Attaque nucléophile du doublet de S sur l'oxo électrophile. Transfert de 2 électrons au métal
- Hydrolyse. Un hydroxyde se fixe au métal
- Etape 3-1: Réoxydation par étapes du site actif par le Cyt cox

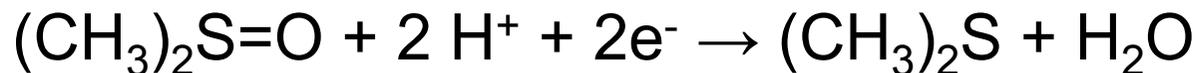
## 2. Type DMSO Réductase

- Famille la plus diverse:
  - Réduction: DMSO Réductase, Nitrate Réductase
  - Oxydation sans transfert d'O: Formiate Dehydrogénase
  - Non Rédox: Acétylène hydratase



Variable: Pourrait expliquer la grande diversité de substrats

- DMSO Réductase:

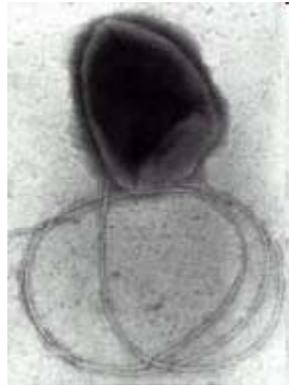


accepte beaucoup d'autres substrats N-oxyde ou S-oxyde  
Dans eubactéries uniquement

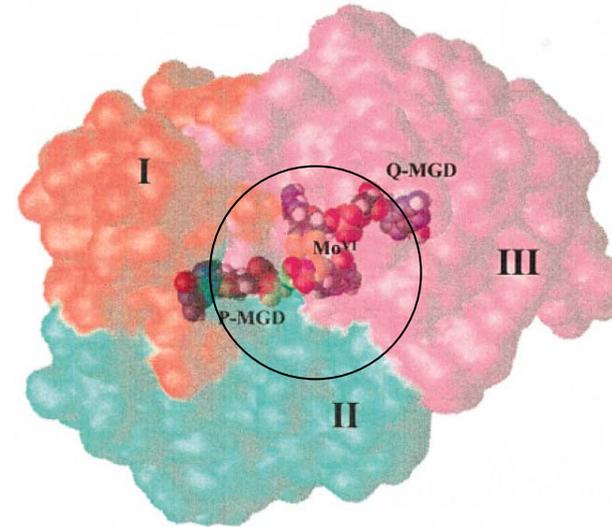
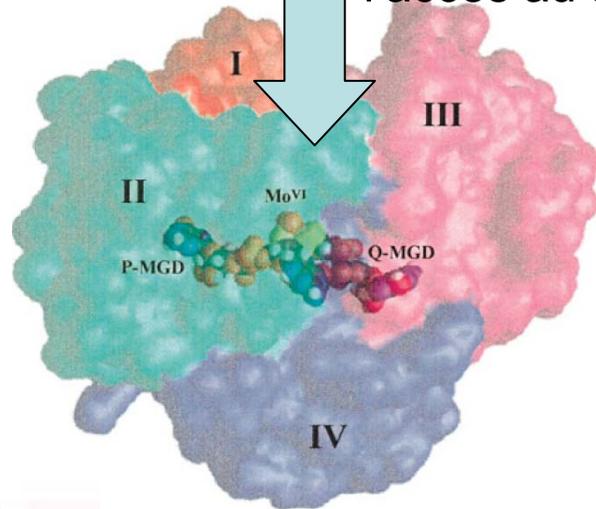
# DMSO Réductase

- Structure: Variable selon organismes
  - *R. sphaeroides* = Monomère contenant un seul centre rédox qui est le Mo
  - *E. Coli* = 3 sous unités: DmsA (1 Mo), DmsB (4 [4Fe-4S]), DmsC (ancrage dans la membrane + réaction avec menaquinol)
- Impliquée dans la production d'énergie:
  - *E. Coli*: enzyme membranaire = génération de potentiel de membrane
  - *R. Sphaeroides*: Fermentation du DMSO:
    - $\Delta G^\circ$  pour la réduction en utilisant NADH = -92 kJ/mol;
    - Moins bon rendement que la respiration sur O<sub>2</sub> (-218 kJ/mol), mais meilleur que la fermentation alcoolique.

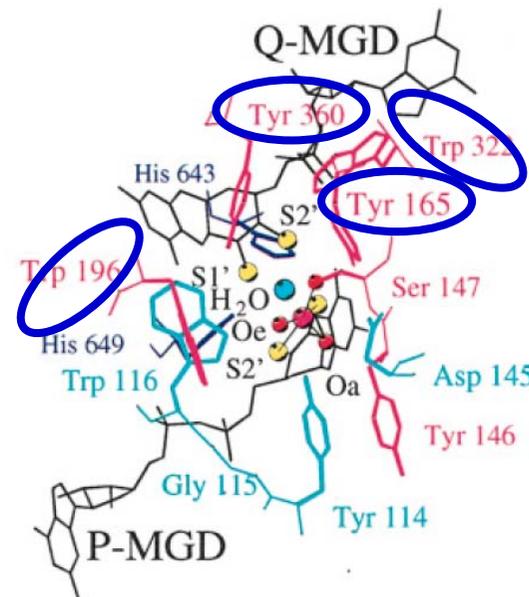
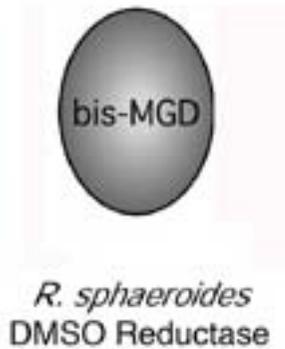
# *R. sphaeroides* = Monomère de 87 KDa



Canal permettant l'accès au site actif

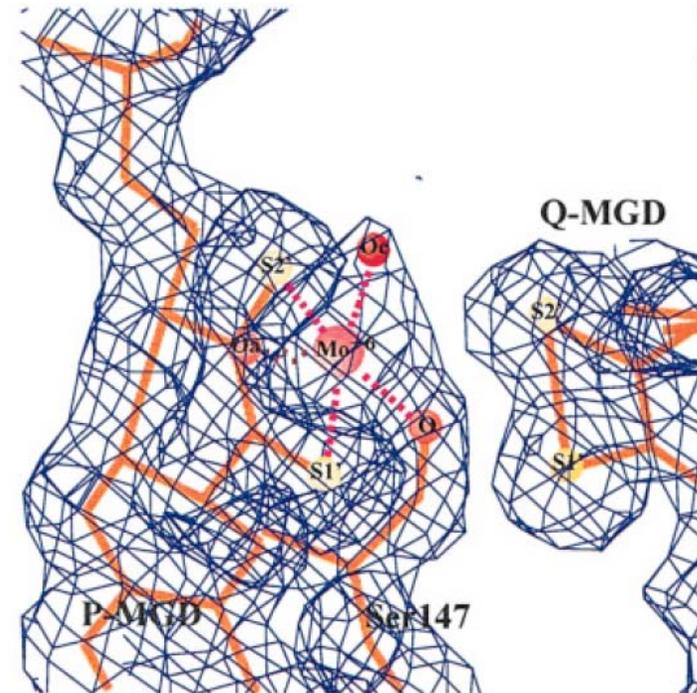
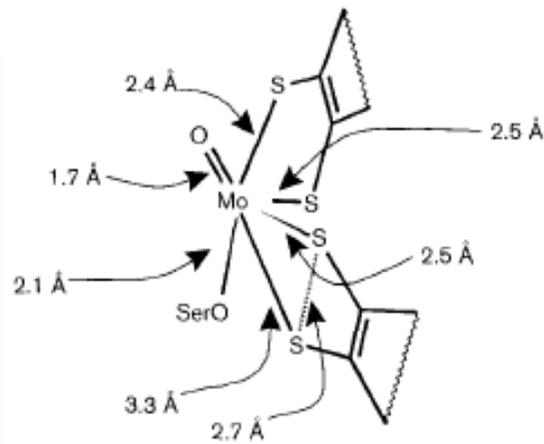
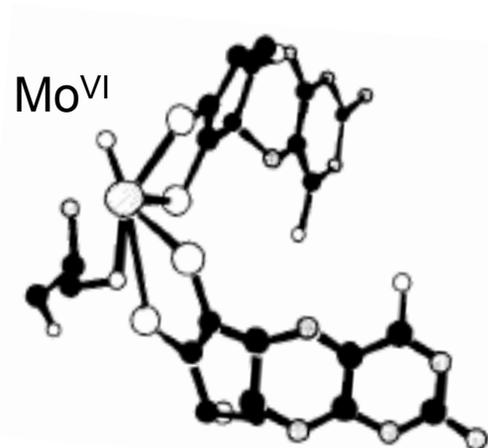


Vue de haut



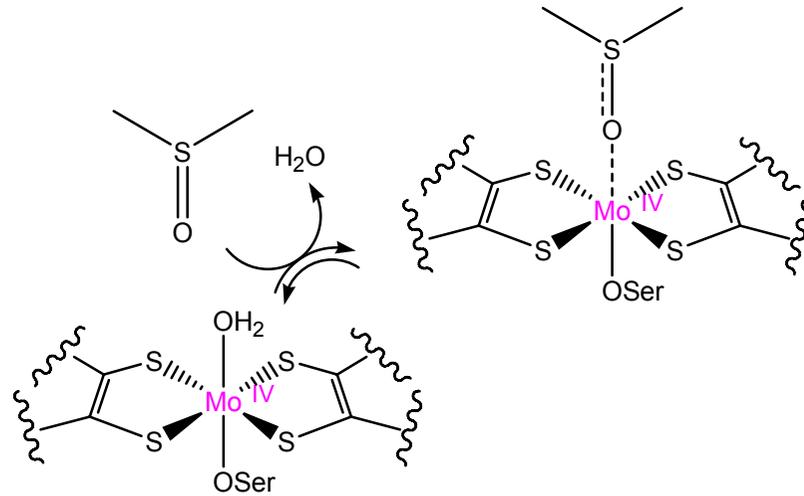
Amino-acides du canal: Hydrophobes

# Site actif



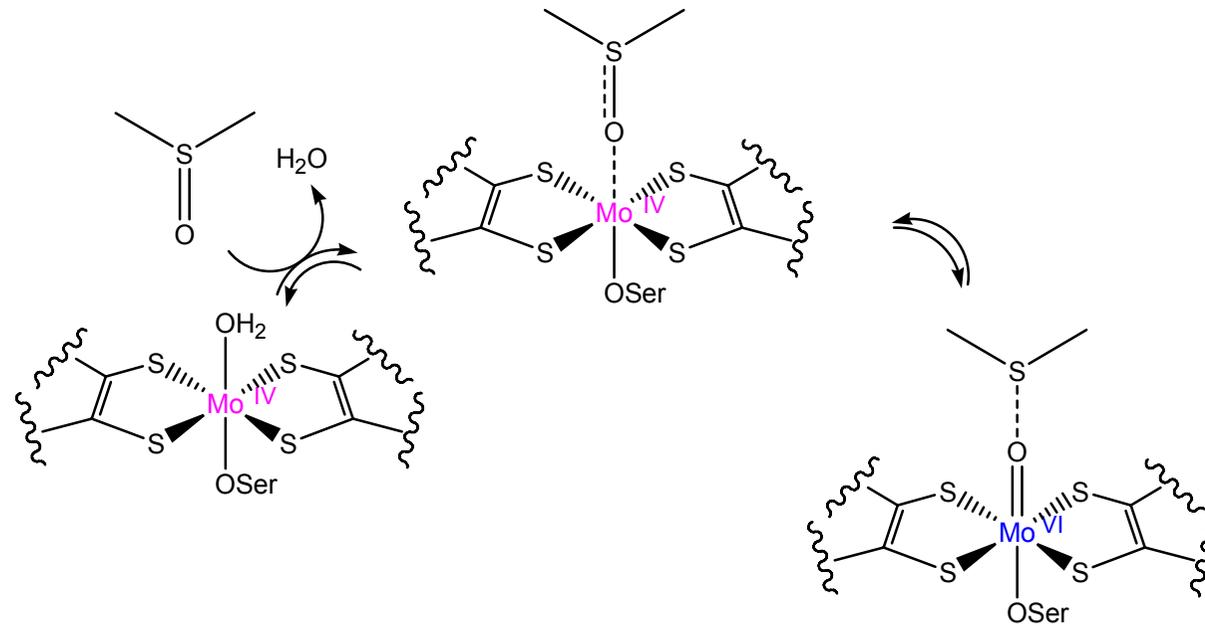
Grande diversité dans les structures RX du site actif:  
Forme active à gauche, forme où une des 2 molybdoptérines ne coordine pas à droite (remplacée par un 2eme oxo, Mo pentacoordiné)

# Mécanisme



Fixation du DMSO à la place d'une molécule d'eau  
Polarisation de la liaison S=O par le Mo

# Mécanisme



Transfert de l'oxygène au métal

Oxydation du centre métallique à 2 électrons

# Mécanisme

$$E(\text{Mo}^{\text{VI}}/\text{Mo}^{\text{V}}) = +160 \text{ mV}$$

$$E(\text{Mo}^{\text{V}}/\text{Mo}^{\text{IV}}) = +144 \text{ mV}$$

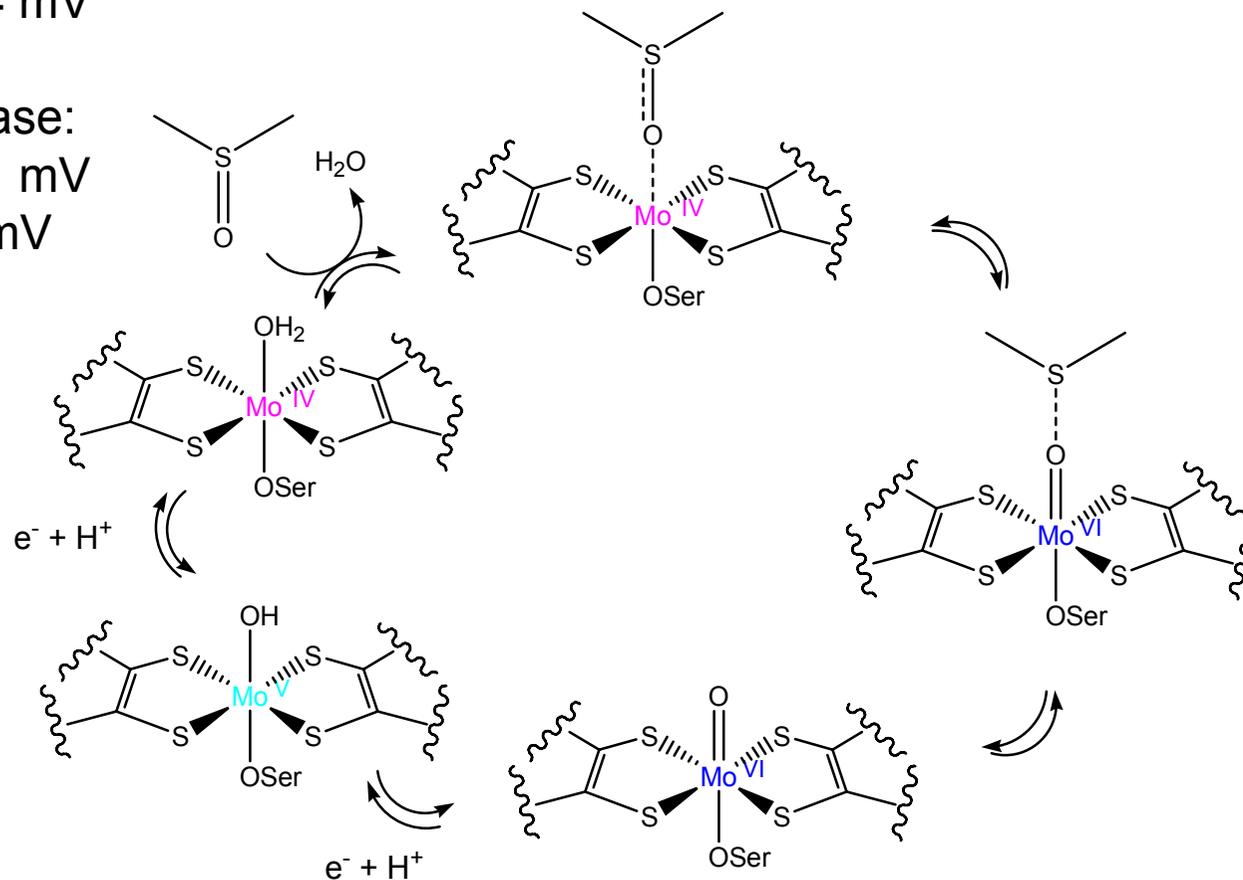
(pH 7)

Pour la sulfite oxydase:

$$E(\text{Mo}^{\text{VI}}/\text{Mo}^{\text{V}}) = +131 \text{ mV}$$

$$E(\text{Mo}^{\text{V}}/\text{Mo}^{\text{IV}}) = -86 \text{ mV}$$

(pH 6)



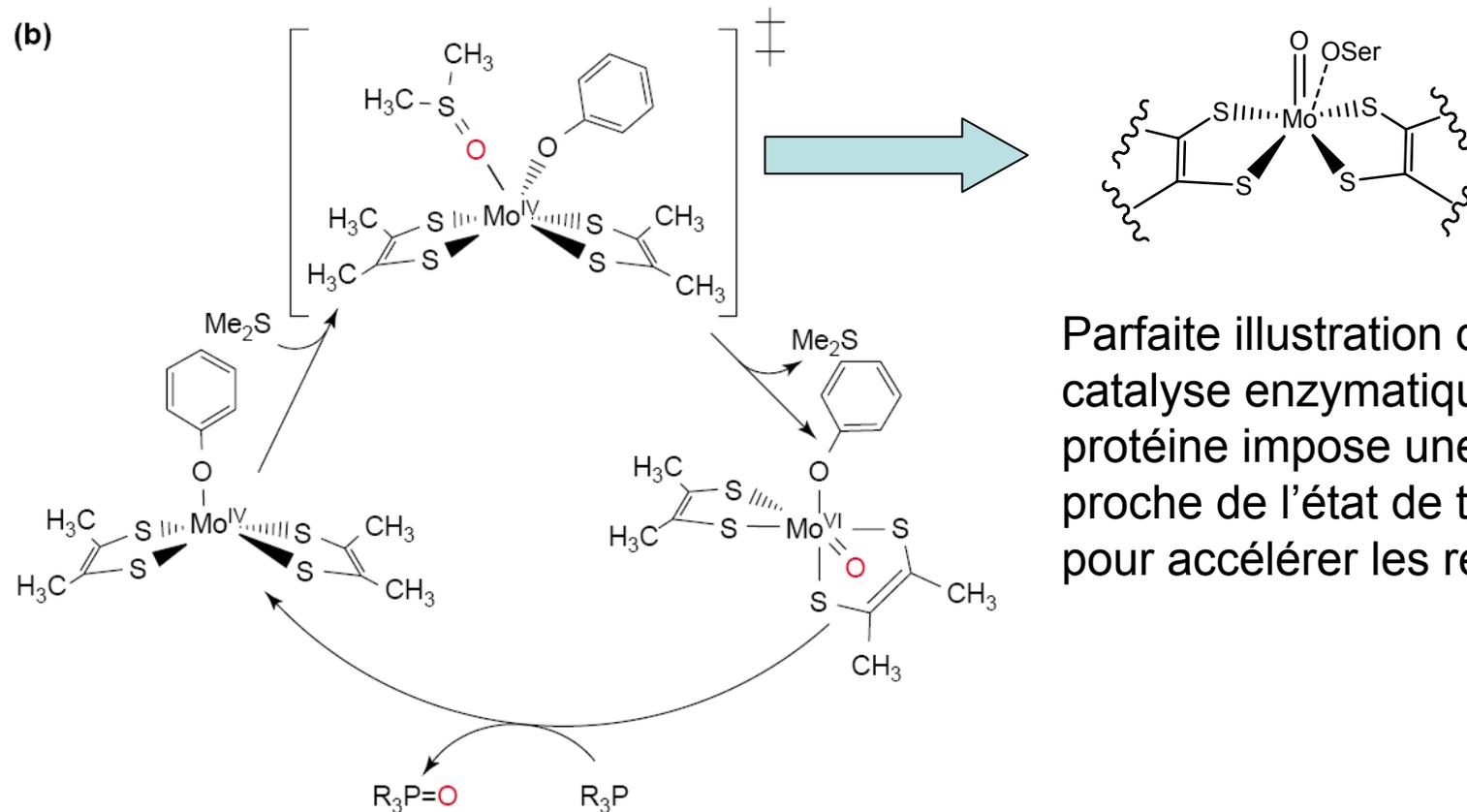
Pas de centre rédox accepteur dans la protéine

Re-réduction du Mo

Transfert de e<sup>-</sup> facilité par une des molybdoptérines (celle situé le plus en surface); Dans le cas de la DMSO Réductase de R. Capsulatus un CytC pentahème a été identifié comme partenaire.

# Schéma réactionnel dans le cas d'un complexe modèle de DMSO Réductase

Etat de transition similaire à la structure de l'enzyme



Parfaite illustration de la catalyse enzymatique: La protéine impose une géométrie proche de l'état de transition pour accélérer les réactions

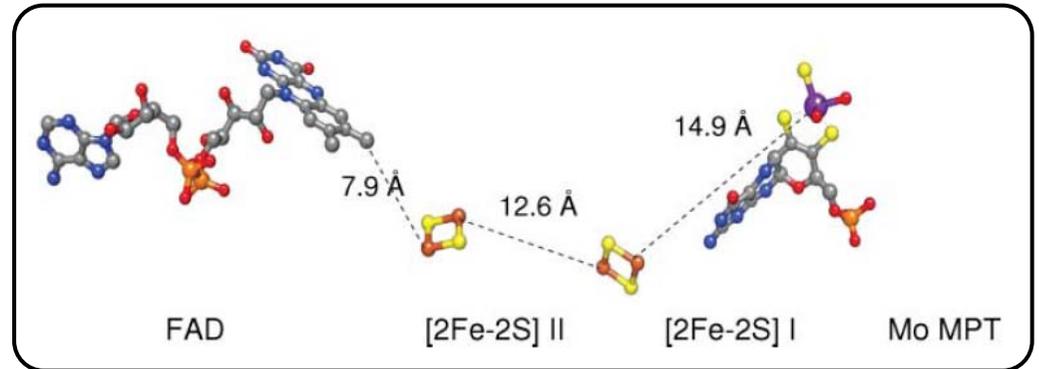
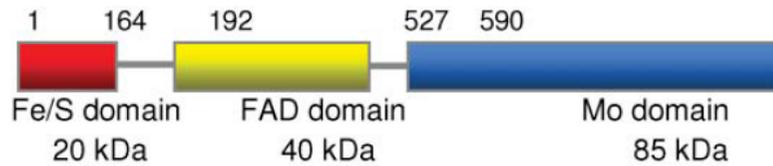
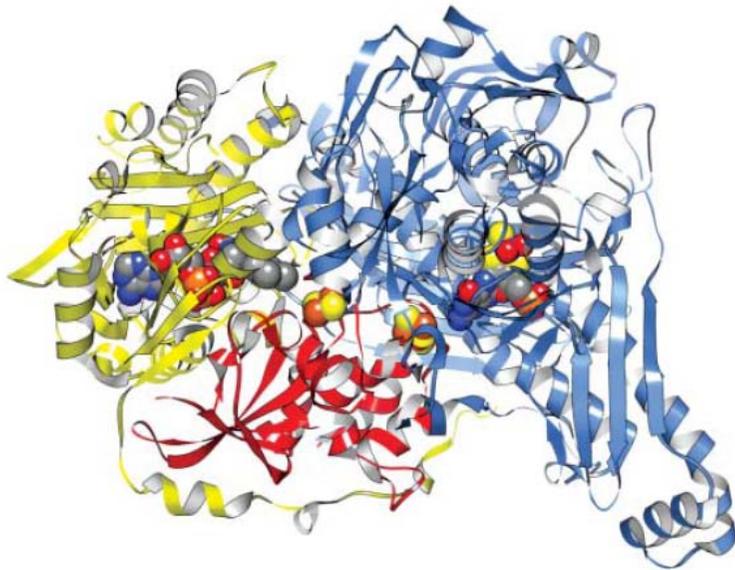
# 3. Famille des Xanthine Oxydases



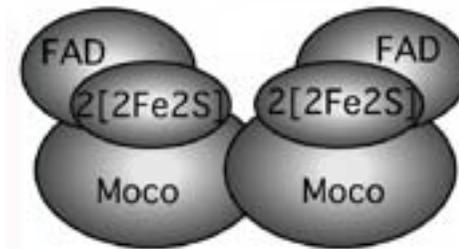
- Représentants de cette famille dans tous les organismes (Xanthine Oxydase = enzyme clé du métabolisme des purines)
- Accepte généralement un grand nombre d'aldéhydes et d'hétérocycles aromatiques comme substrat
- Comportent un grand nombre de cofacteurs additionnels:

Enzyme	Mw/kDa	Subunit composition	Cofactors
<b>Xanthine Oxidase Family</b>			
Bovine milk XO/XDH	2 × 145	α <sub>2</sub>	2 × ([Mo,=O,=S,-OH, MPT], 2 × [2Fe-2S], FAD)
<i>D. gigas</i> AOR (MOP)	2 × 135	α <sub>2</sub>	2 × ([Mo,=O,=O,-OH, MCD], 2 × [2Fe-2S])
<i>P. putida</i> QOR	2 × (85 + 30 + 18)	(αβγ) <sub>2</sub>	2 × ([Mo,=O,=S,-OH, MCD]) + (2 × [2Fe-2S]) + (FAD)
<i>O. carboxidovorans</i> CODH	2 × (80 + 30 + 17)	(αβγ) <sub>2</sub>	2 × ([Mo-SCu,=O,-OH, MCD]) + (2 × [2Fe-2S]) + (FAD)
<i>T. aromatica</i> 4-HBCR	2 × (75 + 35 + 17)	(αβγ) <sub>2</sub>	2 × ([Mo,=O,=O,-OH, MCD]) + (2 × [2Fe-2S], [4Fe-4S]) + (FAD)

# Structure de la Xanthine Oxydase

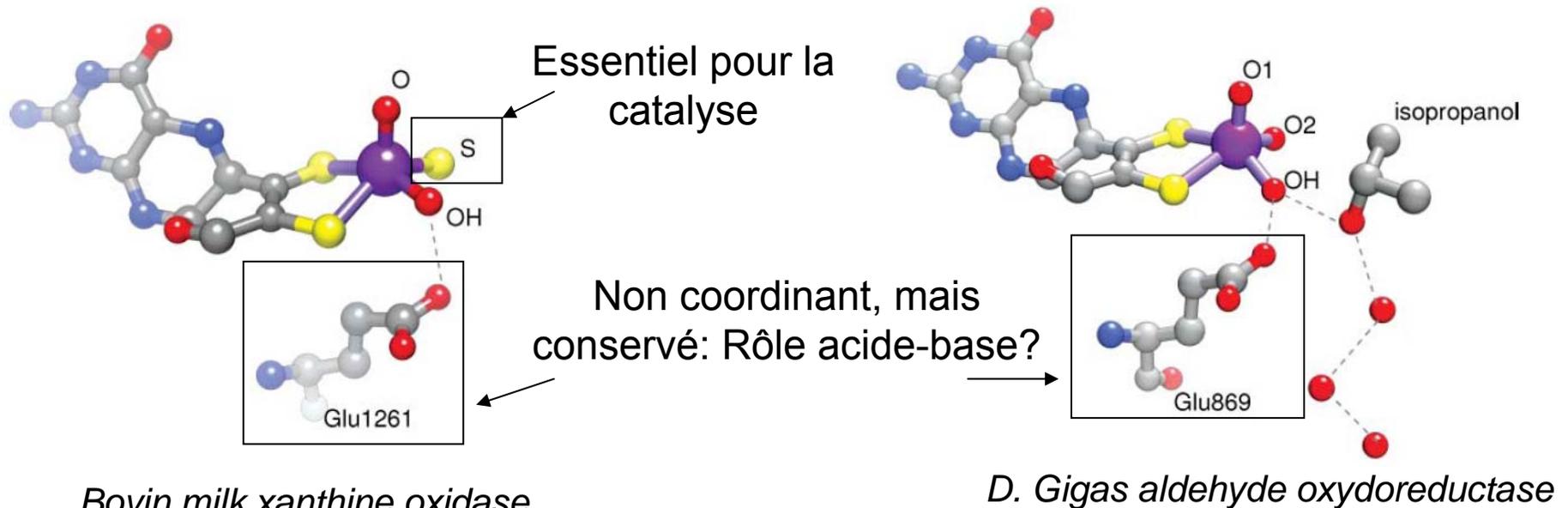


Localisation spatiale des cofacteurs



bovine milk  
XDH/XO

# Site actif



Bovine milk XO/XDH<sup>42</sup> (1.98 Å)

Mo-OH	Mo-O (apical)	Mo-S (equatorial)	Mo-S1 (MPT)	S2 (MPT)
1.97	1.73	2.17	2.42	2.44

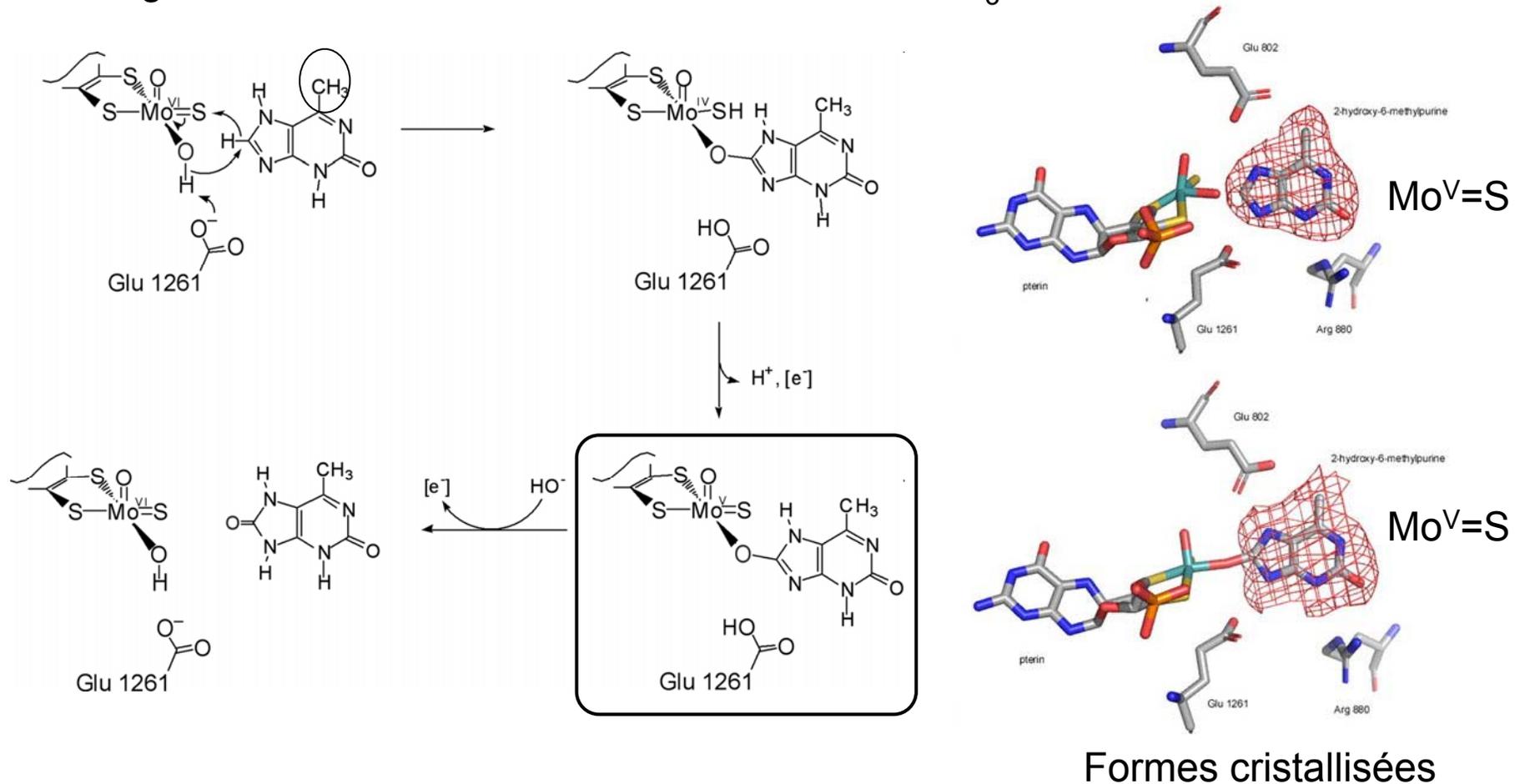
*D. gigas* AOR<sup>36</sup> (1.28 Å)

Mo-OH	Mo-O1 (apical)	Mo-O2	Mo-S1 (MCD)	Mo-S2 (MCD)
1.99	1.74	1.79	2.41	2.49

- Mo en pyramide base carrée
- Pas de liaison de coordination entre le métal et un acide de la protéine

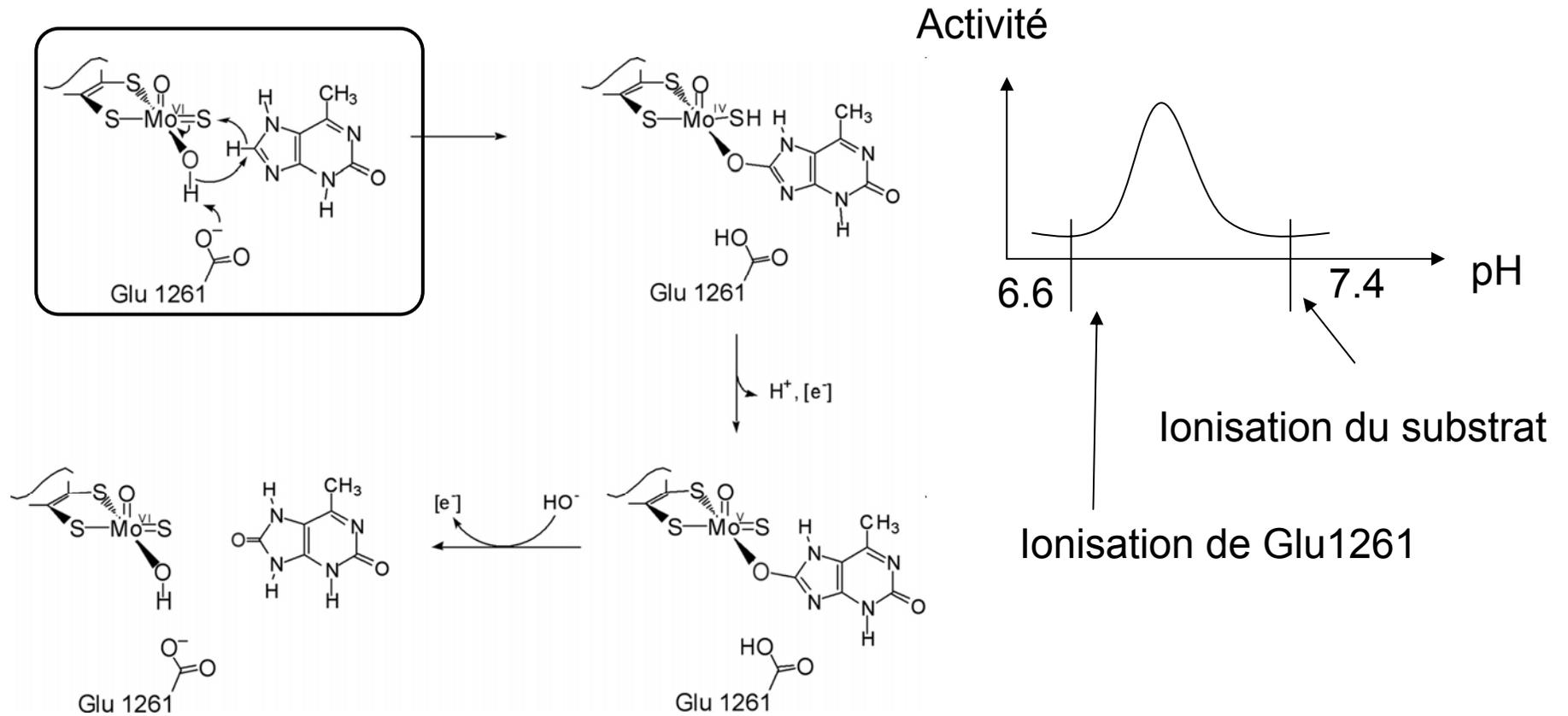
# Mécanisme catalytique

Analogue de substrat: Xanthine C=O au lieu de C-CH<sub>3</sub>

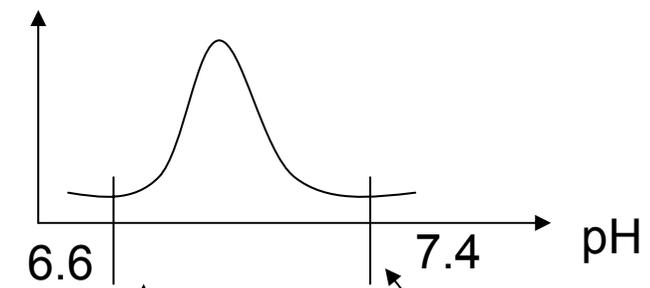


L'oxo n'est pas impliqué contrairement aux enzymes précédentes !

# Mécanisme catalytique



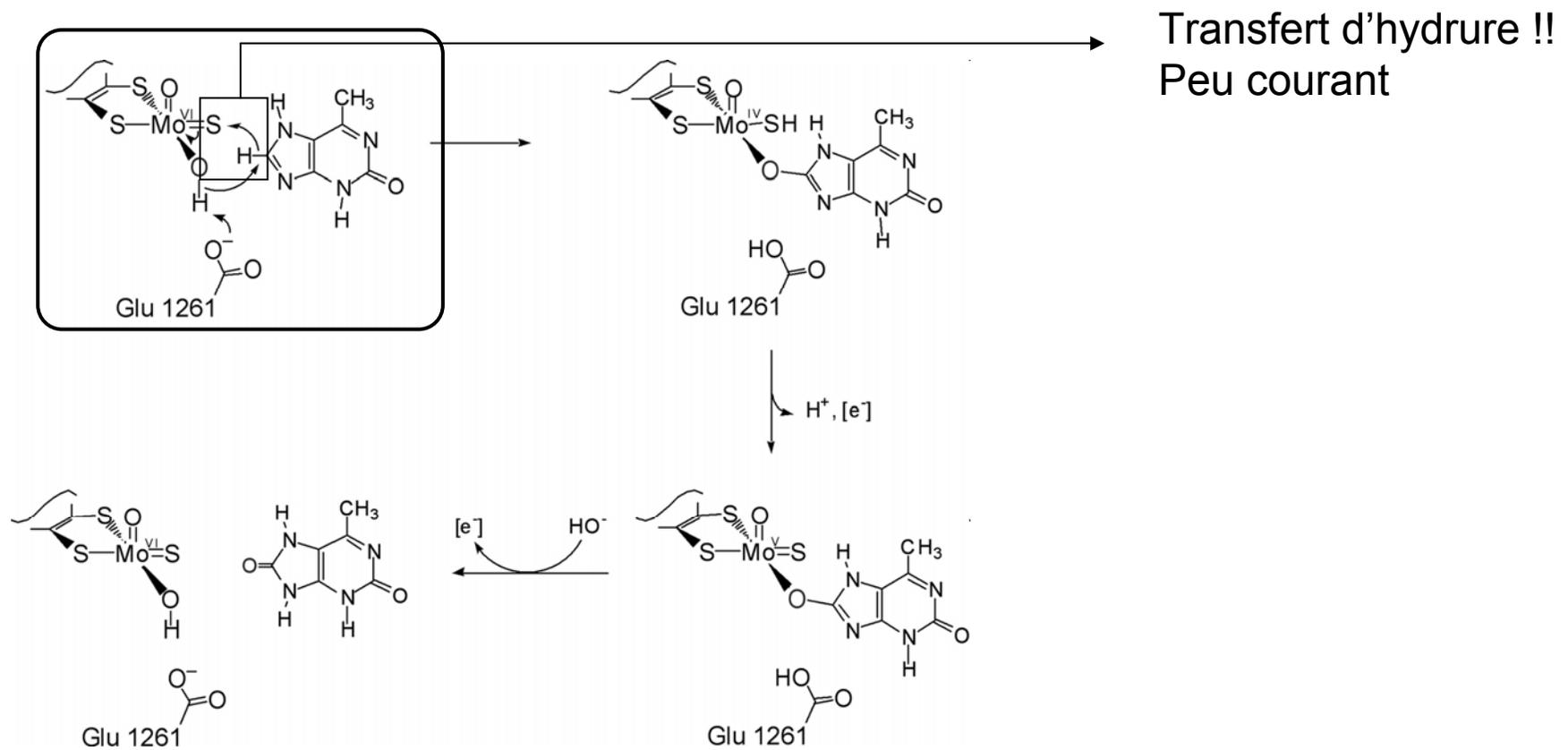
Activité

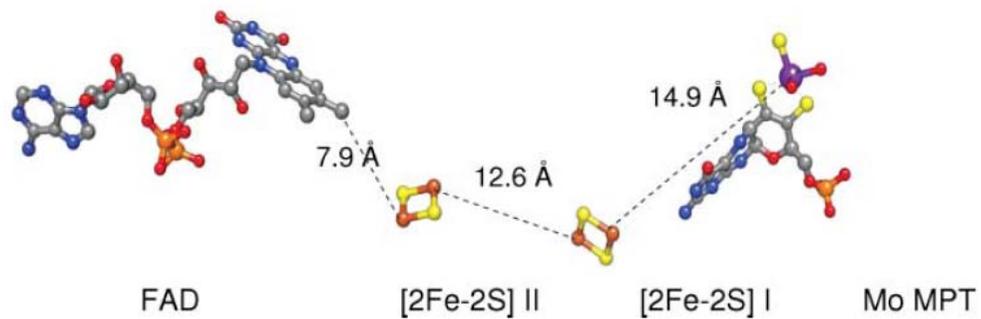
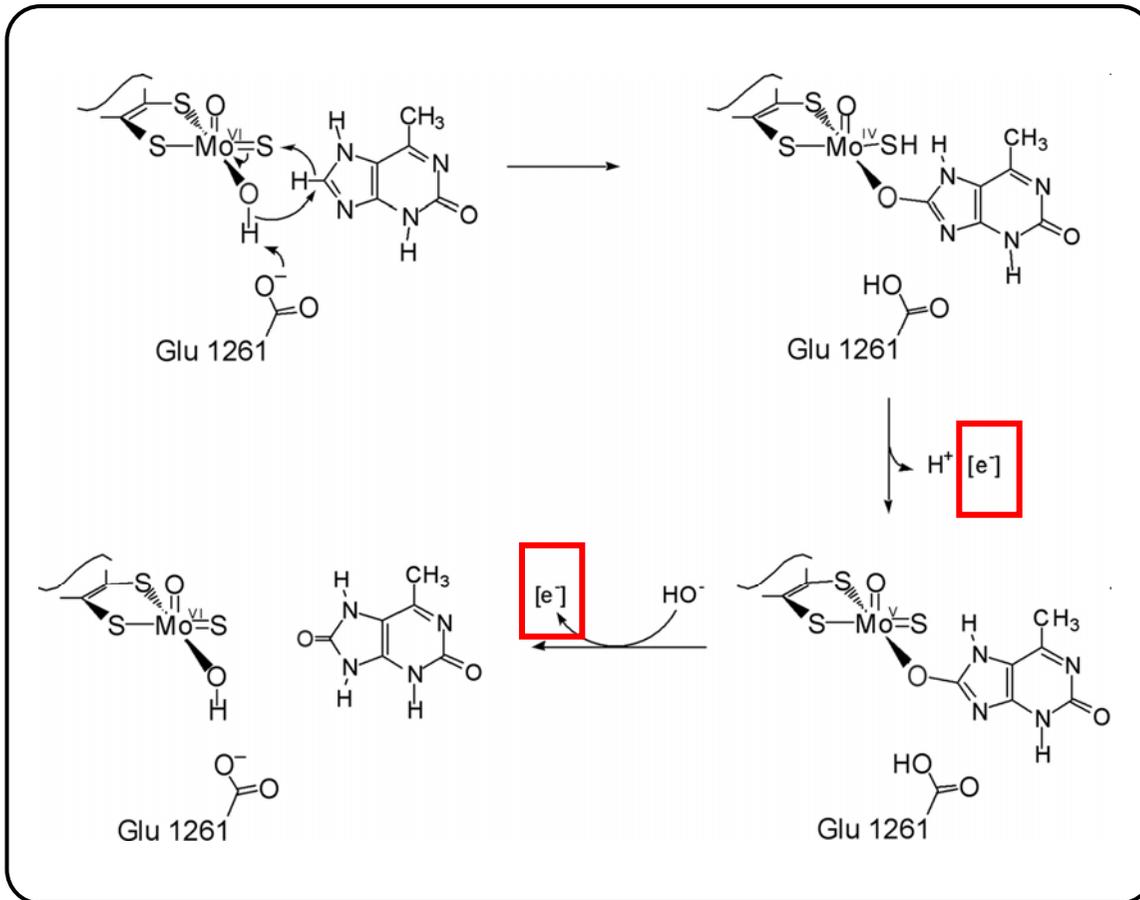


Ionisation du substrat

Ionisation de Glu1261

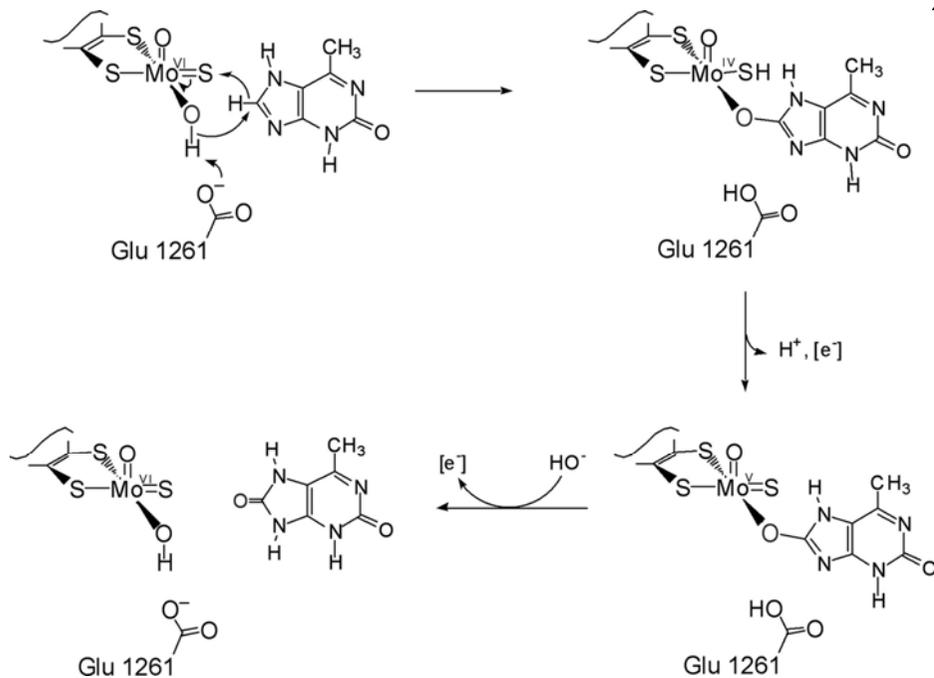
# Mécanisme catalytique





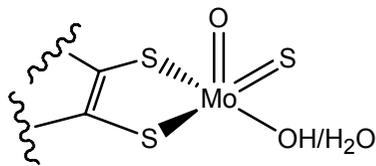
Transferts d'électrons aux centres [2Fe-2S] puis au FAD

# Bilan

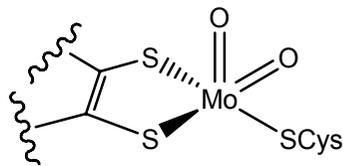


- Particularités par rapport aux autres enzymes à Mo:
  - Transfert d'hydrures
  - L'oxo n'est pas impliqué
  - Très grand nombre de cofacteurs additionnels
  - Réduction du centre à 1 électron alors que le substrat est en place

# III. Enzymes à Tungstène

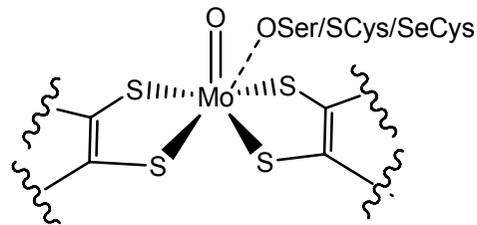


Xanthine Oxydase

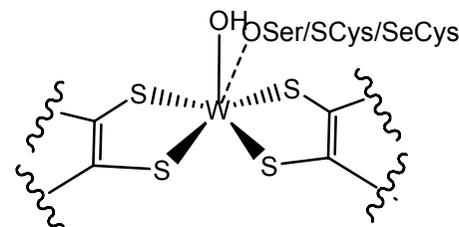


Sulfite oxydase

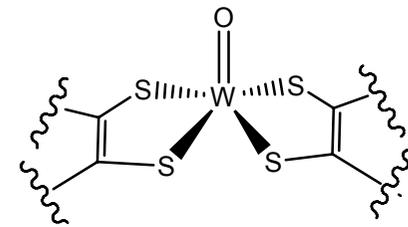
Coordination par 2  
molybdoptérines comme  
la famille des DMSO  
réductases; 2 classes



DMSO réductase



Formate  
dehydrogenase



Aldéhyde  
ferredoxine  
oxydoréductase

+ [4Fe4S]

+ [2Fe2S] + [4Fe4S]

Rem: Il existe aussi une formate dehydrogenase à Mo (type DMSO réductase)

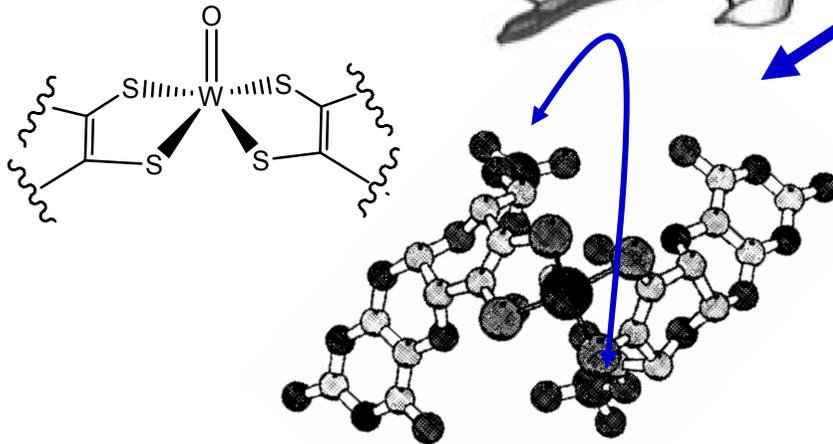
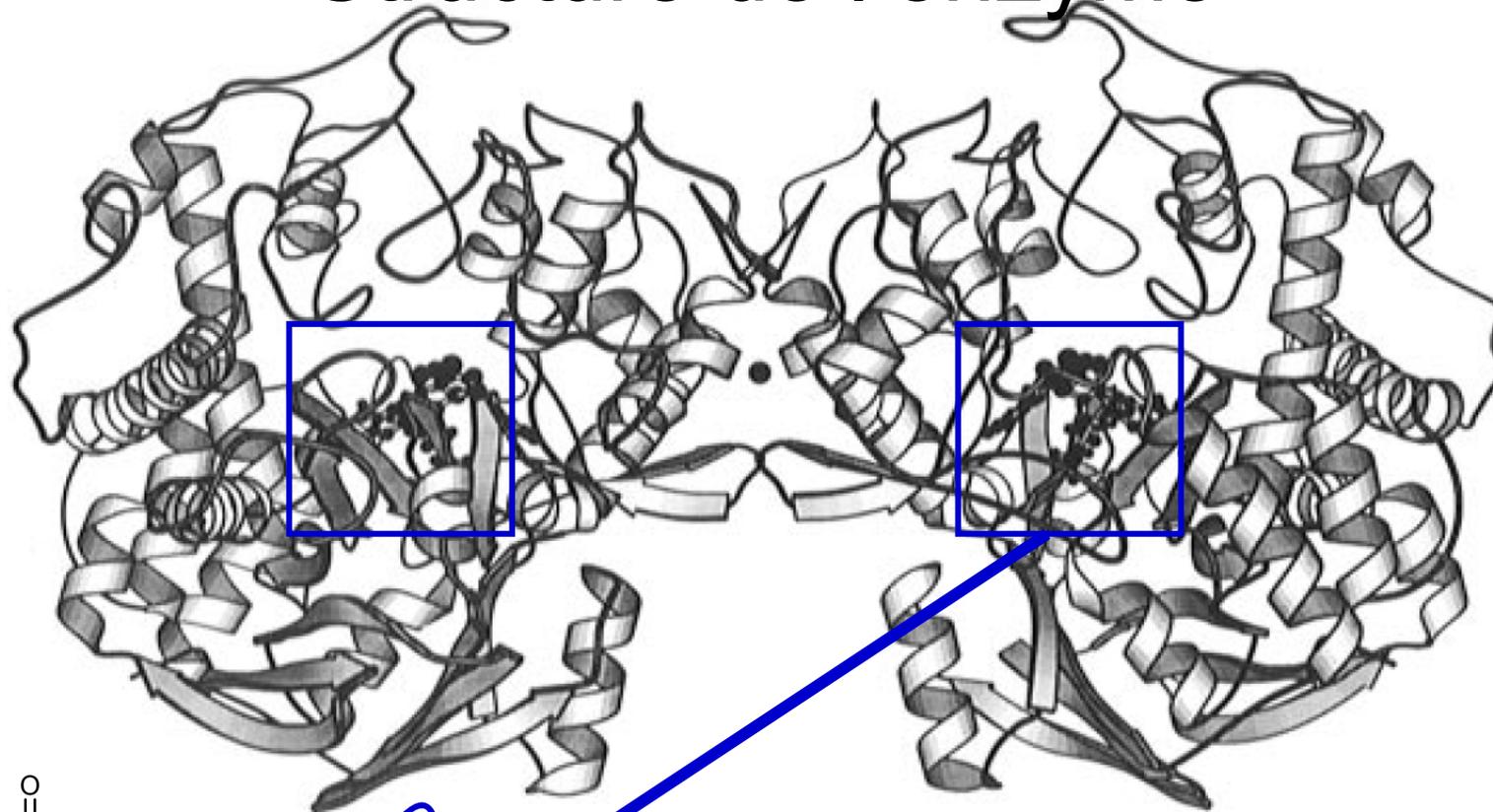
# Aldéhyde oxydoréductase



- La plus étudiée est celle de *Pyrococcus Furiosus*, un hyperthermophile (culture à 72-95°C) qui peut pousser jusqu'à 102°C!
- Homodimère 2x67 KDa, chaque sous unité contenant 1 W et 1 [4Fe-4S]
- AOR oxydent une large gamme d'aldéhydes, mais marche mieux avec ceux issus d'acides aminés: Rôle dans la fermentation des acides aminés.

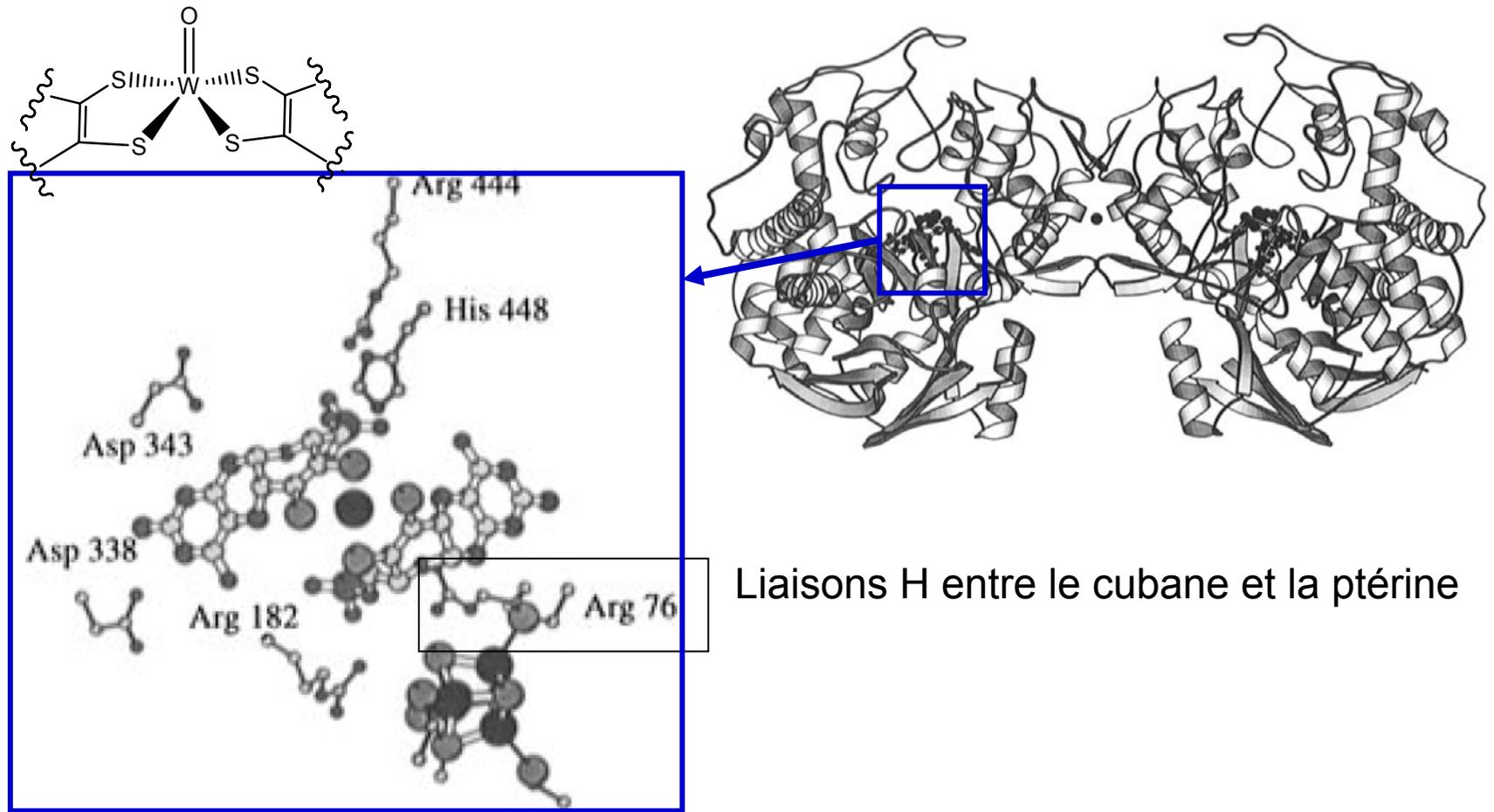
organism and enzyme <sup>a</sup>	holoenzyme mass (kDa)	subunits	subunit mass (kDa)	W content <sup>b</sup>	pterin cofactor <sup>c</sup>	FeS or cluster content <sup>d</sup>
I. AOR Type						
<i>P. furiosus</i> AOR <sup>39,41,52</sup>	136	α <sub>2</sub>	67	2 W	non-nuc	2 [Fe <sub>4</sub> S <sub>4</sub> ] + 1 Fe
<i>Thermococcus</i> sp. ES-1 AOR <sup>55</sup>	135	α <sub>2</sub>	67	2 W	non-nuc	2 [Fe <sub>4</sub> S <sub>4</sub> ] + 1 Fe?
<i>Pyrococcus</i> sp. ES-4 AOR <sup>56</sup>	135	α <sub>2</sub>	67	2 W	non-nuc	2 [Fe <sub>4</sub> S <sub>4</sub> ] + 1 Fe?
<i>P. furiosus</i> FOR <sup>56</sup>	280	α <sub>4</sub>	69	4 W	non-nuc	4 [Fe <sub>4</sub> S <sub>4</sub> ]
<i>T. litoralis</i> FOR <sup>56,57</sup>	280	α <sub>4</sub>	69	4 W	non-nuc	4 [Fe <sub>4</sub> S <sub>4</sub> ]
<i>P. furiosus</i> GAPOR <sup>58</sup>	63	α	63	1 W	non-nuc	~6 Fe
<i>C. thermoaceticum</i> CAR form I <sup>37,67,68,70</sup>	86	αβ	64, 14	1 W	non-nuc	~29 Fe, ~25 S
<i>C. thermoaceticum</i> CAR form II <sup>37,67,68,70</sup>	300	α <sub>3</sub> β <sub>3</sub> γ	64, 14, 43	3 W	non-nuc	~82 Fe, ~54 S (2 FAD)

# Structure de l'enzyme



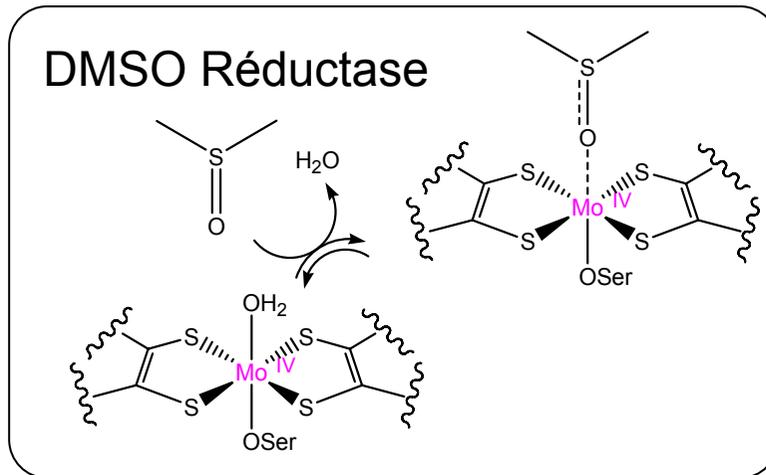
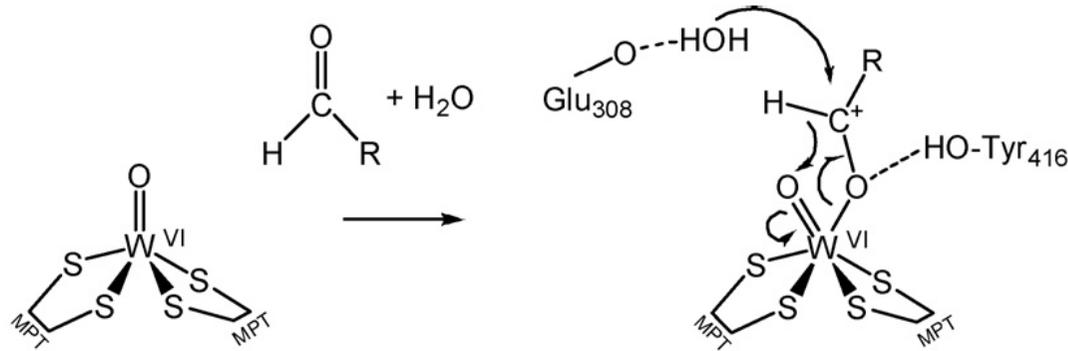
Canal hydrophobe de 15Å mène au site actif :  
Partie vers l'extérieur: V233, L238, V245, I249,  
L459, Y461, et F499.  
Intérieur: T243, L246, I250, Y312, Y427, et Y452

Phosphates coordinent un ion  $Mg^{2+}$



[4Fe-4S] enfoui 6 Å sous la surface:  
 Distance compatible avec une interaction  
 avec une ferredoxine acceptrice finale  
 Plus petite distance W-Fe = 8 Å:  
 Transfert d'électron facile

# Mécanisme réactionnel

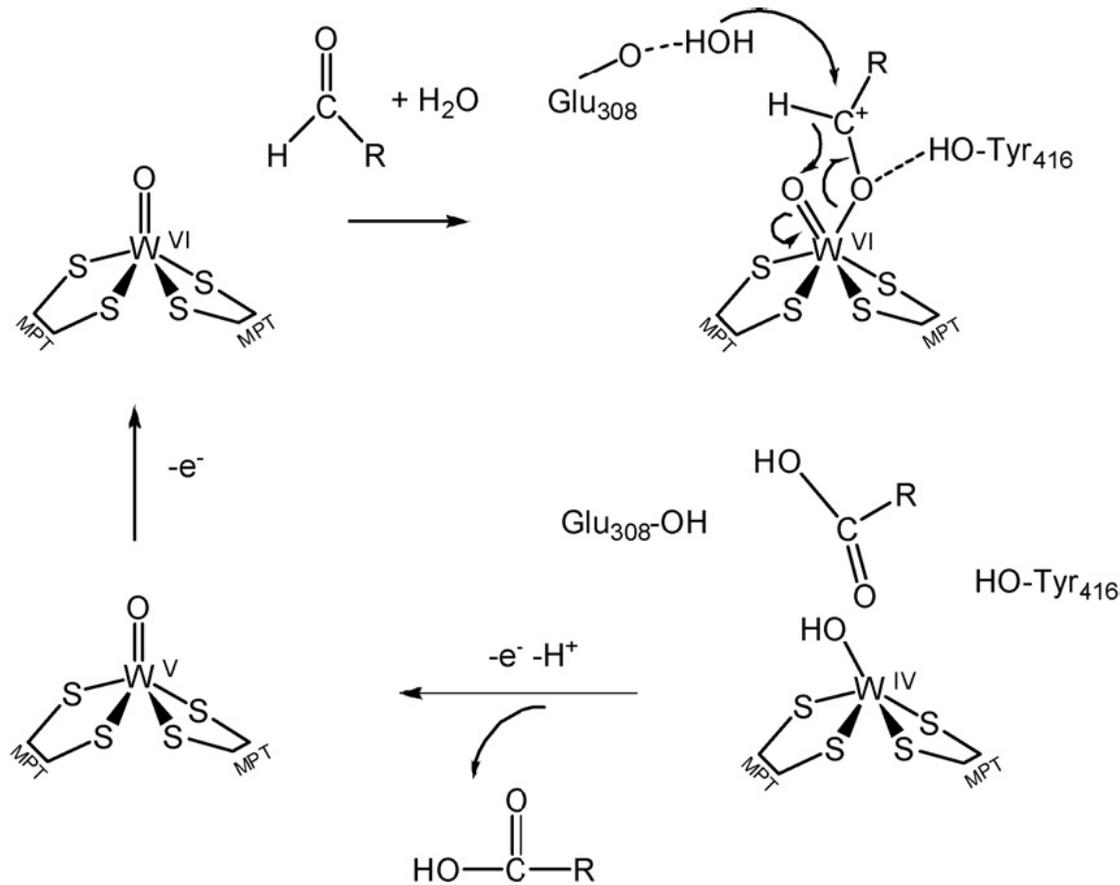


Polarisation par le métal, comme dans la DMSO réductase. Assistance de groupements acido-basiques

Attaque d'un  $\text{OH}_2$  rendu nucléophile par liaison H avec un glutamate



# Mécanisme réactionnel



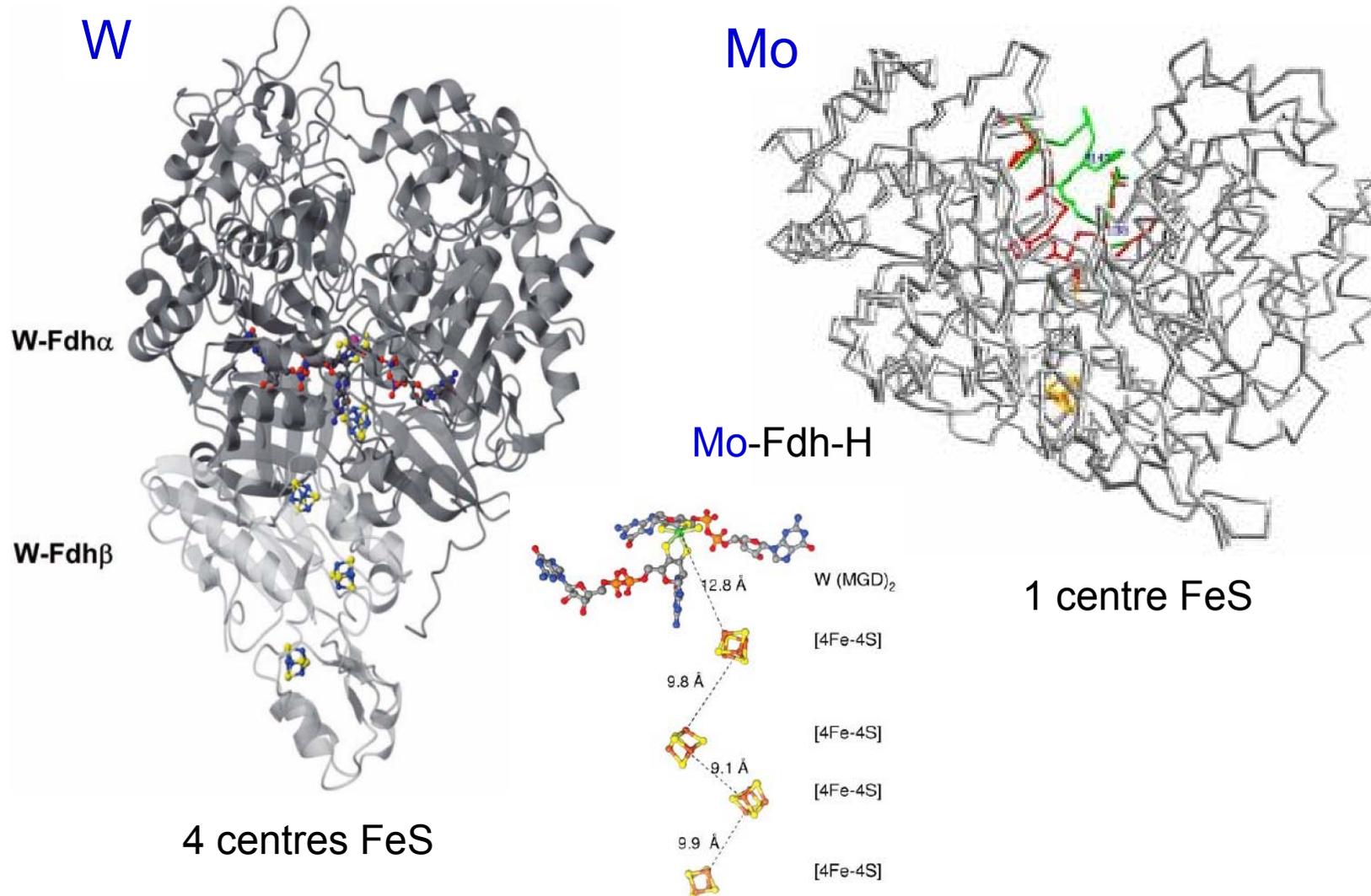
Partenaire physiologique acceptant les électrons = Ferredoxine (1 par électron)  
 Bilan: Le métal oscille entre +IV et +VI, présence d'oxo  
 comme pour Mo

# IV. Formiate dehydrogenase: enzyme à W ou Mo

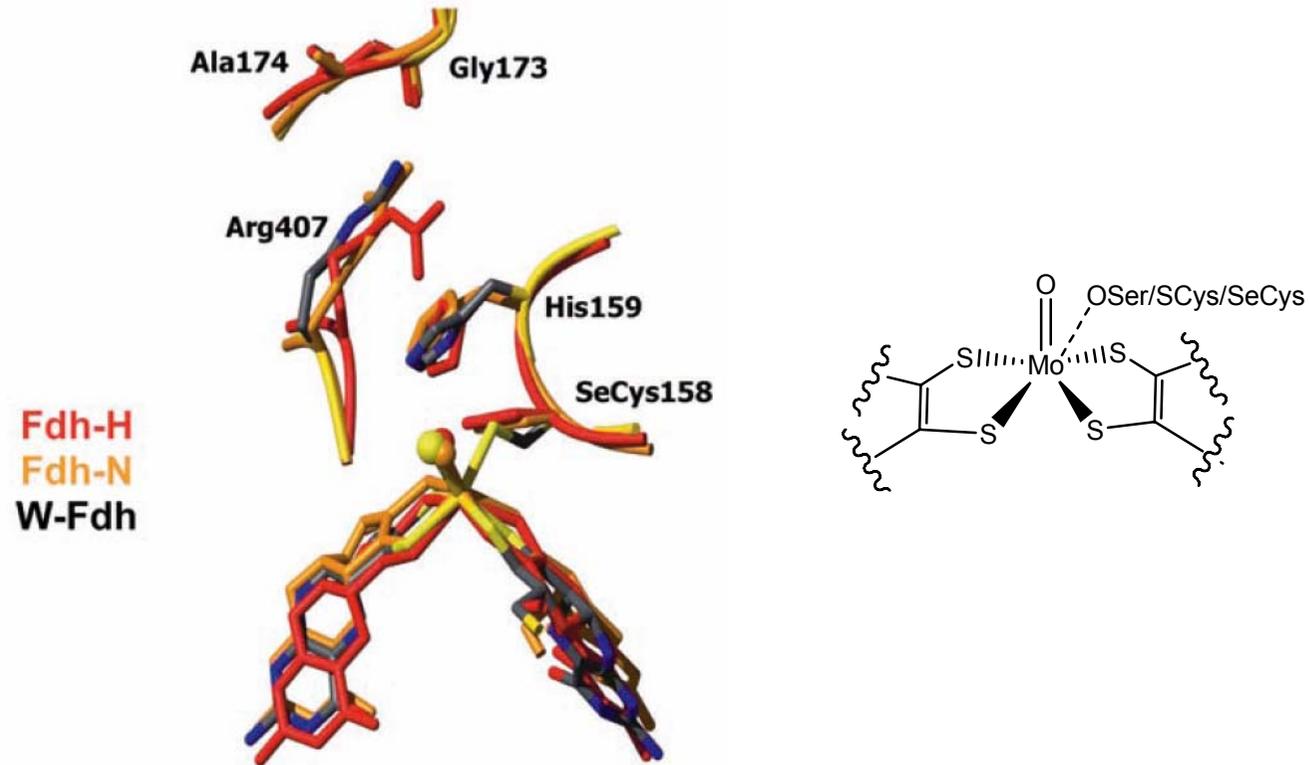
- $\text{HCO}_2^- \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{H}^+ + 2 \text{e}^-$  ( $E^\circ = -420 \text{ mV}$ )
- Réaction différente des autres classes: Pas d'insertion de O de  $\text{H}_2\text{O}$ ; Plutôt rupture de liaison C-H et formation de liaison C=O
- *D. Gigas*: hétérodimère (92 + 29 KDa) à W
- *E. Coli*: Mo, 3 isoenzymes (FdH-N; FdH-O; FdH-H) exprimés selon les conditions; FdH-H: monomère de 80 KDa

# Structures des protéines

→ Assez différentes

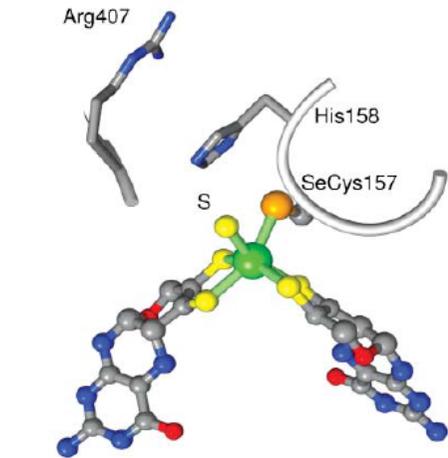


# Structure des sites actifs

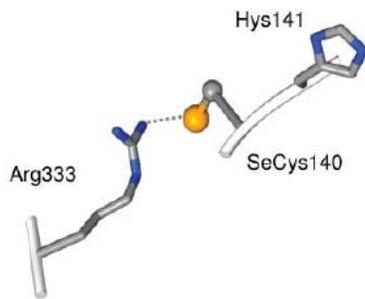


Parfaitement similaire que le métal soit W ou Mo.

# Mécanisme



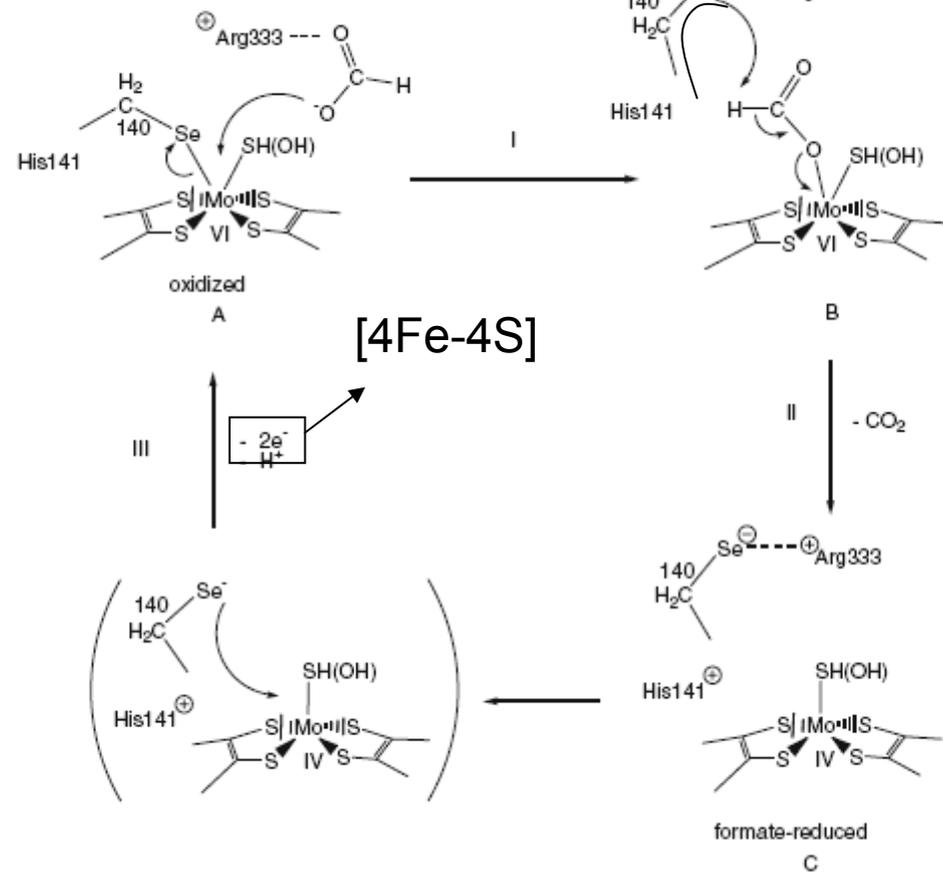
*D. gigas* W-Fdh

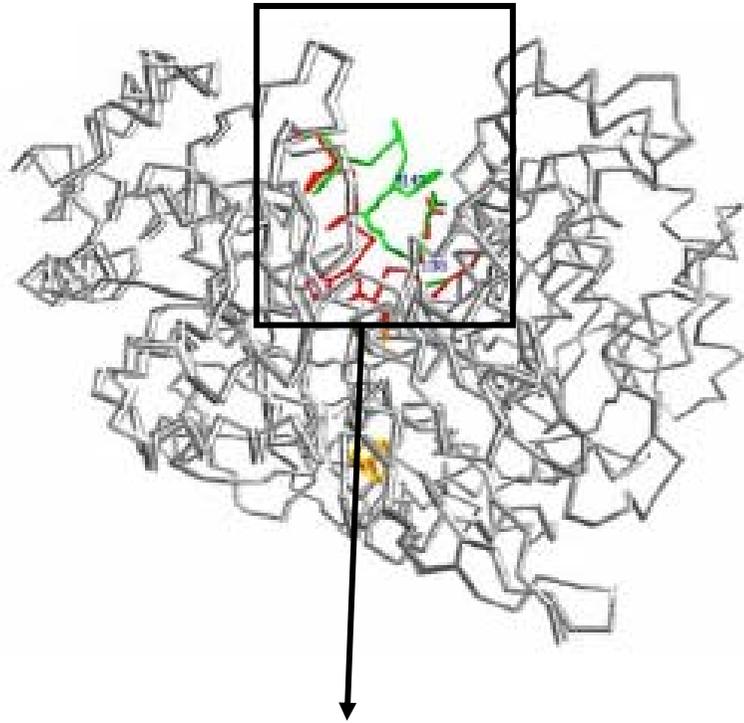


*E. coli* formate-reduced Fdh-H

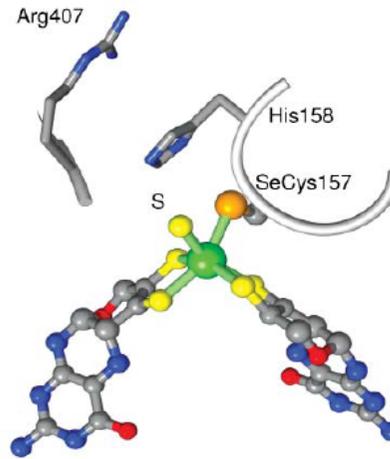
Déplacement de Se  
par le formiate

Déplacement de 9 Å et  
stabilisation par Arg<sup>+</sup>

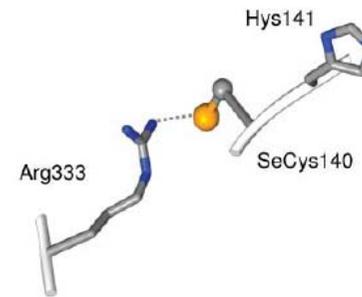




Partie flexible

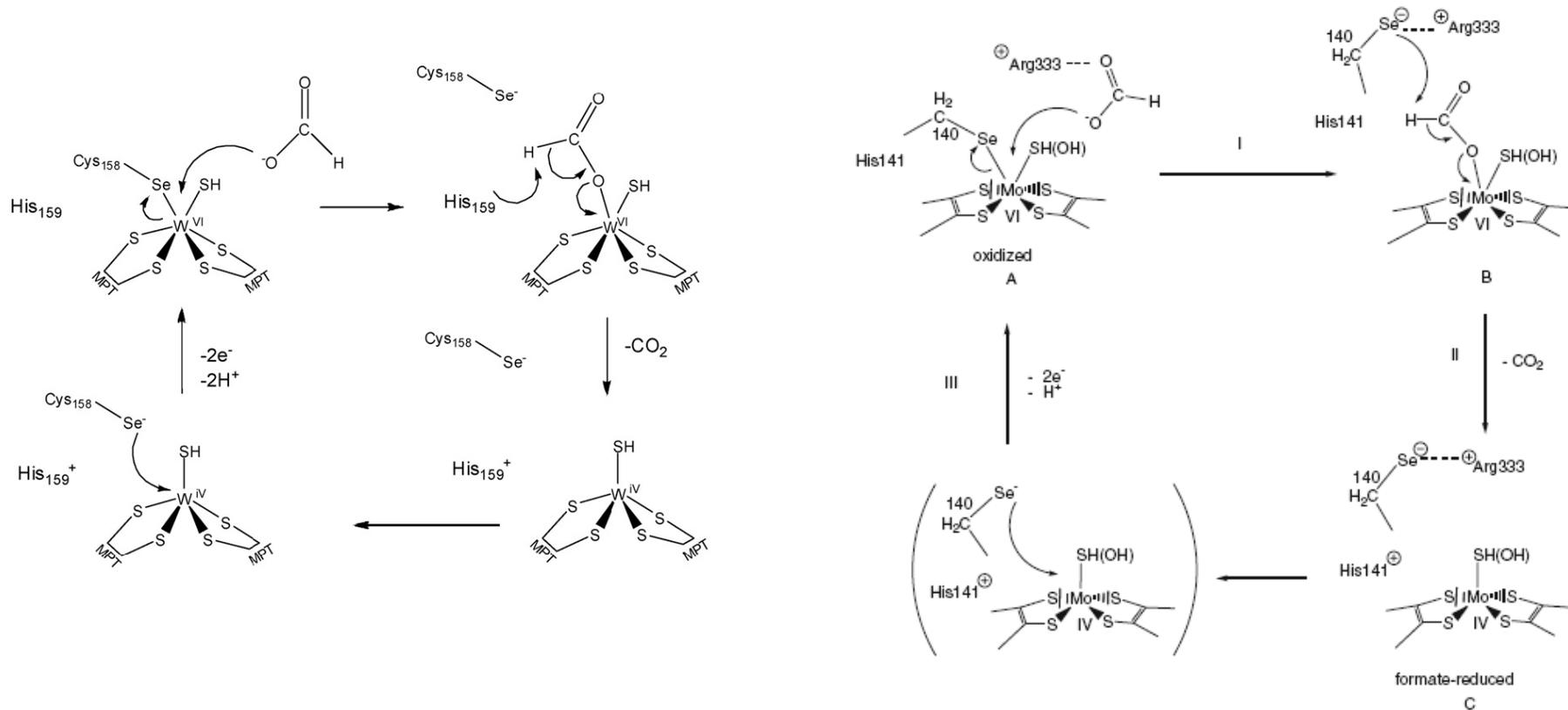


*D. gigas* W-Fdh



*E. coli* formate-reduced Fdh-H

# Formiate dehydrogenase Mo vs W

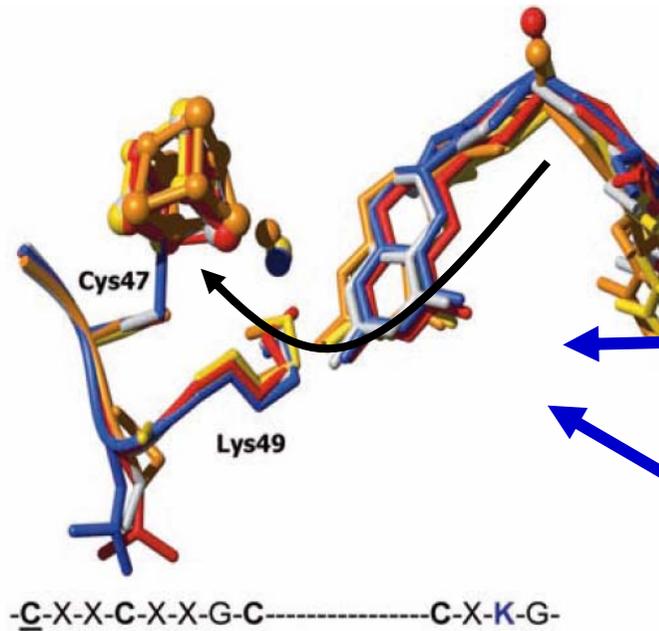


→ Mécanismes parfaitement similaires !!

Mais: - Mo:  $\text{HCO}_2^- \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}^+ + 2 e^-$

- W:  $\text{HCO}_2^- \leftarrow \text{CO}_2 + \text{H}^+ + 2 e^-$

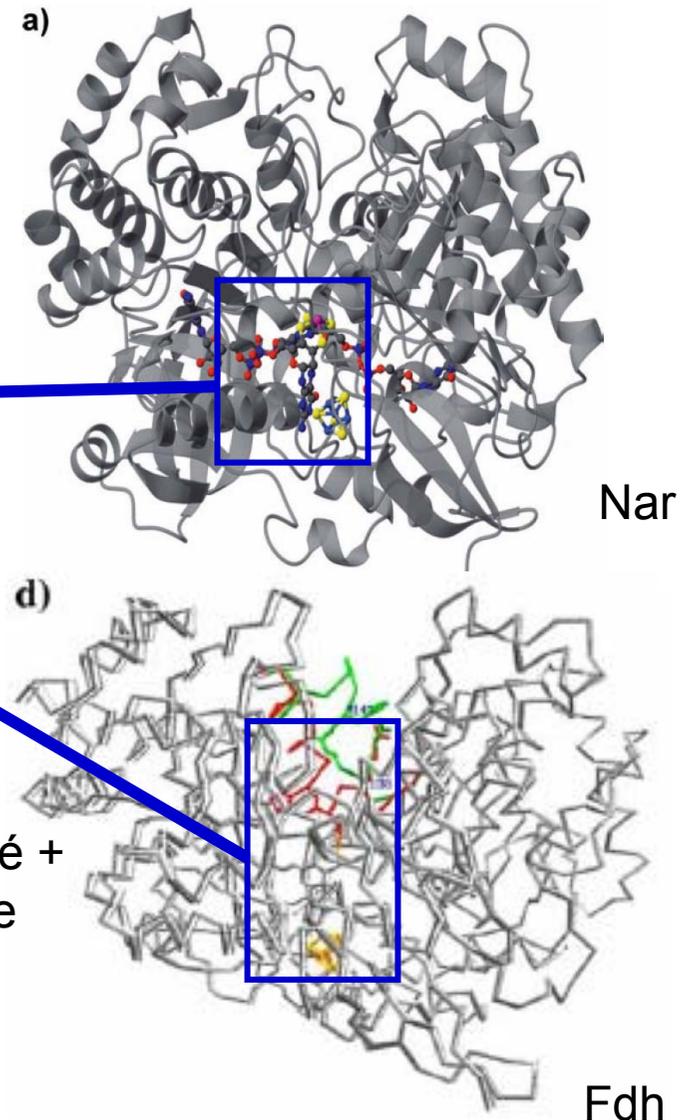
# Transfert d'électrons au cubane: Etudié dans le cas du Mo



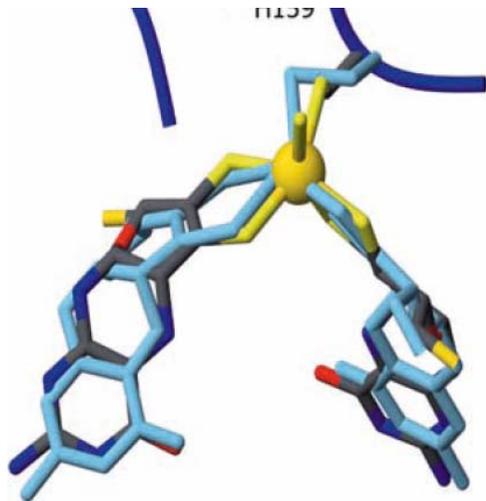
Superposition Mo-FdH et Mo-Nar/Nap

K85R: 23 % d'activité, K85M: 0% → Résidu chargé + nécessaire pour transférer les électrons au cubane

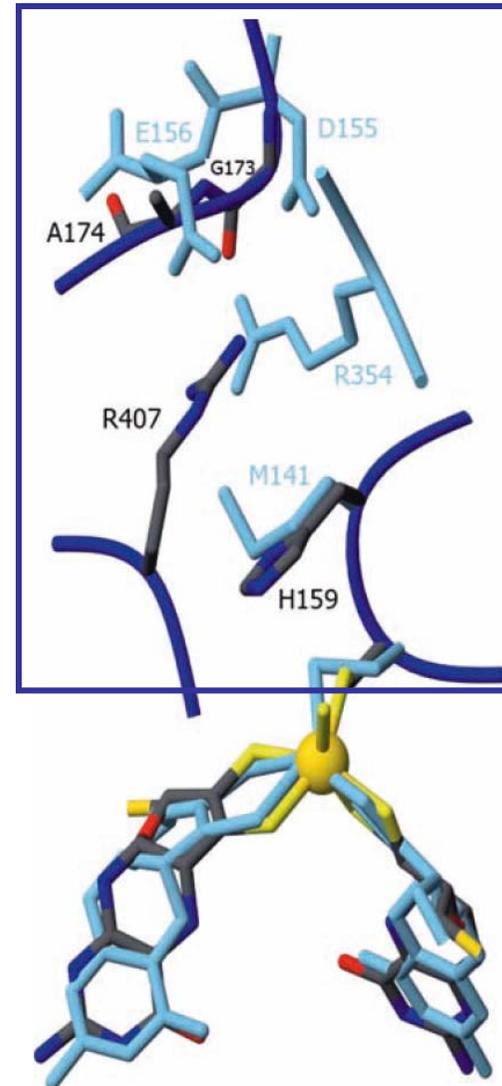
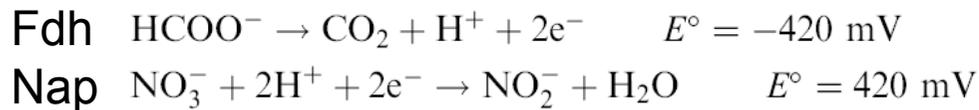
Nar: Nitrate Réductase périplasmique, site actif et arrangement similaires à la Formiate dehydrogenase



# Pourquoi une différence de réactivité entre Nar et FdH (même site actif)?



Site actif Nap (Nar périplasmique)  
en bleu ciel et FdH



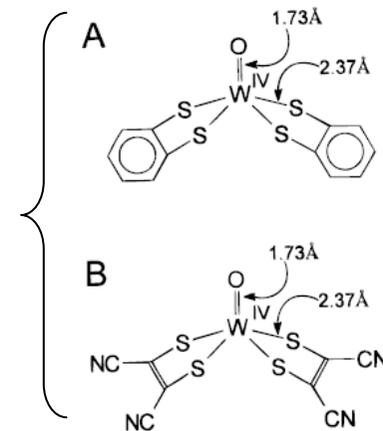
Quinzaine  
d'Å: **Canal**  
**pour le**  
**substrat**  
**différent**

↓  
**Spécificité  
différente**

# V. Conclusion: Pourquoi Mo et W ?

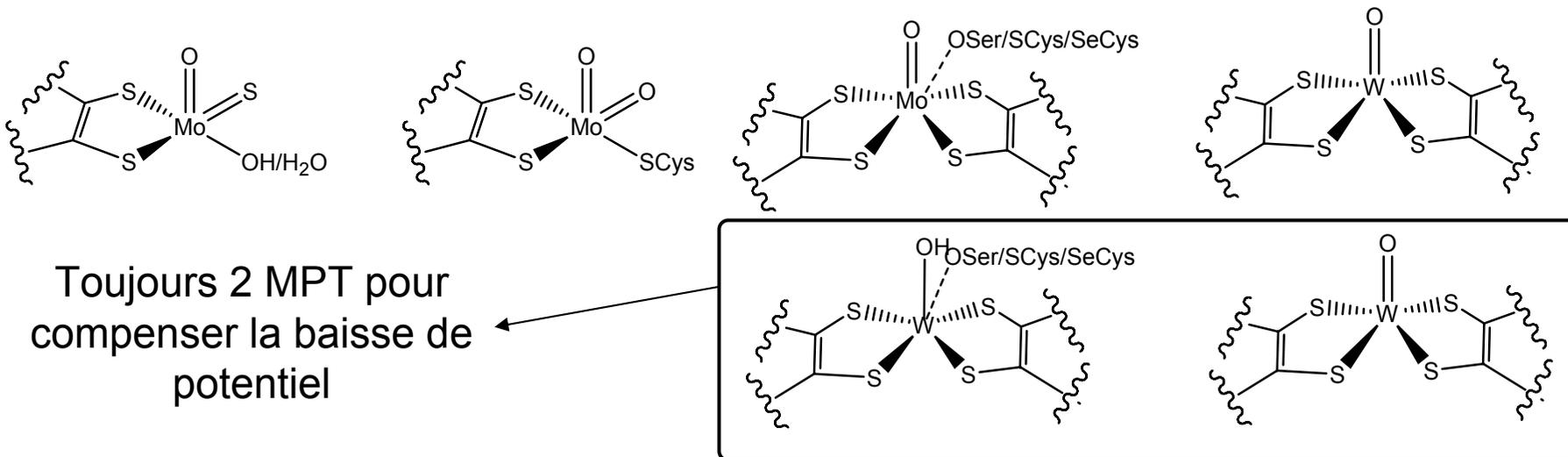
- Raison cinétique:
  - $M^{IV} \rightarrow M^{VI}=O$  (substrat vers ligand): + rapide avec W
  - $M^{VI}=O \rightarrow M^{IV}$  (ligand vers substrat): + rapide avec Mo
- Stabilité:
  - Interaction  $\pi$  plus forte dans W
  - Complexes de  $W^{VI}$  beaucoup plus stables thermiquement (aussi moins labiles, mais labilité augmente avec T)
- Sensibilité à  $O_2$ :

Beaucoup plus sensibles à l'oxygène que leurs analogues Mo



# Potentiel rédox

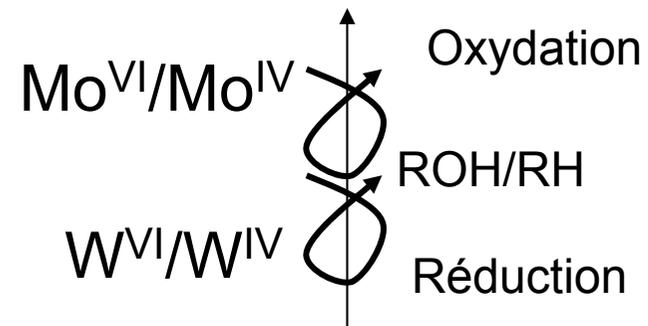
- W plus gros que Mo (5d vs 4d): noyau plus écranté → ionicité de liaison plus grande et stabilisation des hauts degrés d'oxydation (E diminue). Potentiels des complexes de W : 300-400 mV inférieurs aux homologues de Mo
- Remplacement O par S: potentiel de réduction  $\text{Mo}^{\text{IV}}/\text{Mo}^{\text{V}}$  augmente et cinétique de transfert d'électron aussi
- Ligand aromatique augmente potentiel de réduction



# Substitution de W par Mo et vice versa

- DMSO **réductase**: Mo par W +/-
  - W-DMSO réductase + active que Mo pour la réduction du DMSO (rappel W potentiel inférieur: Plus réducteur)
  - W-DMSO réductase pas active pour l'oxydation du DMS
- Sulfite **oxydase**: Mo par W –
- Xanthine **oxydase**: Mo par W –
- Aldéhyde **oxydoréductase**: W par Mo –

$$E^{\circ}(W^{VI}/W^{IV}) < E^{\circ}(Mo^{VI}/Mo^{IV})$$



Potentils d'oxydation d'alcane aliphatiques ou aromatiques au delà: Nécessitent oxydants plus énergétiques ( $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ ) formés à partir d' $\text{O}_2$

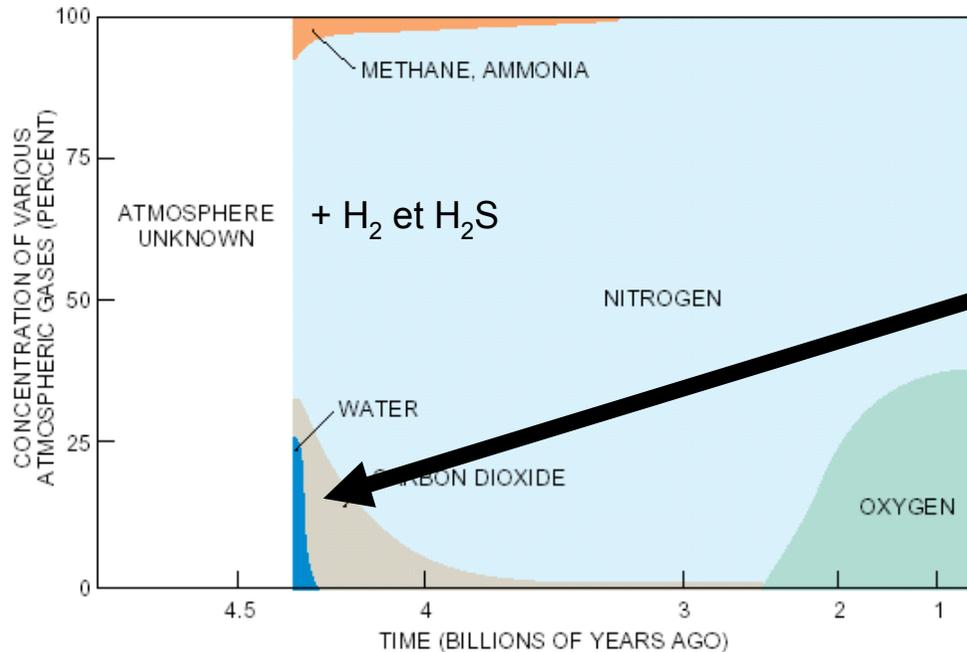
Table 1

Mid-point potentials ( $E^\circ$  versus SHE/mV) for some representative members of the four classes of molybdenum and tungsten-containing enzymes.

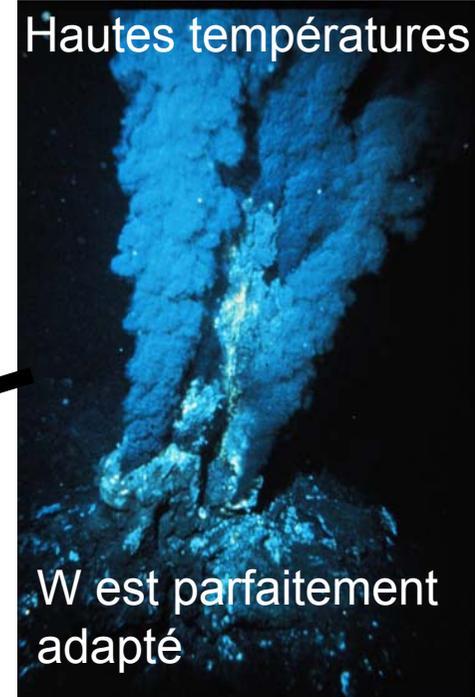
Protein	$E^\circ$ vs SHE/mV	Chemical Structure
Xanthine oxidase from milk, pH=7.7 [43] Mo(V)/Mo(V) Mo(V)/Mo(IV)	-945 -315	
Sulfite oxidase from chicken liver, pH=7.0, 0.1 M KCl [44] Mo(V)/Mo(V) Mo(V)/Mo(IV)	+70 -90	
DMSO reductase from <i>R. sphaeroides</i> , pH=7.0 [45] Mo(V)/Mo(V) Mo(V)/Mo(IV)	+144 +160	
Aldehyde ferredoxin reductase from <i>P. furiosus</i> , pH=7.8 [36] W(V)/W(V) W(V)/W(IV)	-365 -436	

Potentils des enzymes à Mo/W = -400 à +800 mV en fonction des ligands/métal

# W, Mo et évolution



ATMOSPHERIC COMPOSITION, shown by the relative concentration of various gases, has been greatly influenced by life on the earth. The early atmosphere had fairly high concentrations of water and carbon dioxide and, some experts believe, methane, ammonia and nitrogen. After the emergence of living organisms, the oxygen that is so vital to our survival became more plentiful. Today carbon dioxide, methane and water exist only in trace amounts in the atmosphere.



Atmosphère trop réductrice pour que Mo<sup>VI</sup> existe mais compatible avec W<sup>VI</sup>

W trop sensible à l'oxygène et pas assez efficace à basse température: Remplacé par Mo

W apte à catalyser des réactions à la limite des capacités des systèmes biologiques: Potentiels les plus bas en biochimie (proche de -500 mV) et températures extrêmes !