

Électrophorèse capillaire et évaluation de la bio-activité de produits naturels et de synthèse : intérêt et limitation

Professeur **Reine NEHMÉ**

Équipe *Stratégies Analytiques, Affinités et Bioactifs*
ICOA *Institut de Chimie Organique et Analytique*
UMR 7311, CNRS, Université d'Orléans — tél : 02 38 49 27 75
<http://www.icoa.fr/en/content/analytical-strategy-affinities-and-bioactives>

Les cellules coordonnent leurs activités *via* des signaux impliquant souvent des cascades de signalisation impliquant des enzymes. Ces derniers sont des catalyseurs biologiques qui accélèrent des transformations chimiques spécifiques de molécules appelées substrats. Toute dérégulation de ces processus peut entraîner des pathologies graves telles que le cancer, la maladie d'Alzheimer et le diabète chez l'Homme. A ce titre, de petites molécules sont fréquemment employées afin d'éviter le chaos dans le métabolisme cellulaire. Dans le domaine de la cosmétique, le vieillissement de la peau par exemple est majoritairement enzyme-dépendant.

Une réaction enzymatique est caractérisée par des constantes cinétiques évaluées dans des conditions souvent les plus proches possibles du milieu intracellulaire (K_m , V_{max} , K_I et IC_{50}). Mesurer ces paramètres permettra d'identifier les agents responsables du dysfonctionnement du processus cellulaire, de mieux viser les cibles thérapeutiques et de dépister les maladies à l'état précoce. Les techniques conventionnelles spectrophotométriques, fluorimétriques ou radiométriques utilisées pour étudier les réactions enzymatiques consomment des quantités considérables d'échantillons et ont un bilan environnemental souvent défavorable. L'électrophorèse capillaire (EC) est une technique séparative qui présente de nombreux atouts dans ce domaine. La détermination des constantes cinétiques des réactions enzymatiques est ainsi devenue possible sans avoir recours à la radioactivité ou à des modifications de la cible. Le capillaire peut être utilisée comme nanoréacteur enzymatique apportant un intérêt majeur en terme d'économie en échantillons. L'EC a ainsi émergé comme outil de miniaturisation des essais biochimiques puisque la plupart des enzymes intéressantes, notamment humaines ou virales, sont peu accessibles et très onéreuses.

L'objectif de notre travail est de développer en EC des essais enzymatiques simples, économes, sensibles et rapides pour la détermination des constantes cinétiques de diverses familles d'enzymes. Plusieurs systèmes enzymatiques ont pu être caractérisés permettant d'illustrer l'intérêt des essais enzymatiques basés sur l'EC et utilisant divers détecteurs (UV, C^4D , LIF et HRMS). Parmi ces enzymes on cite les kinases, les galactosidases, la myrosinase, l'élastase, la collagénase et l'hyaluronidase. Ce travail vient en appui de toute étude visant le développement de modulateurs de l'activité enzymatique.