

Chapitre 5 : Les enzymes

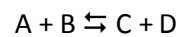
1. Définitions

Les enzymes sont appelées catalyseurs biologiques, il se caractérise par les propriétés suivantes :

- Reste intacte à la fin de la réaction
- Agit à faibles doses et accélère la vitesse de la réaction dans les 2 sens
- Les enzymes se distinguent des catalyseurs biochimiques par leur nature protéique, ce qui leur donne une très haute spécificité selon la nature du composé qui subit la transformation « Substrat ».
- Les enzymes diminuent l'énergie d'activation en empruntant un chemin de réaction qui nécessite moins d'énergie.
- Leur activité peut être soumise à un contrôle qui est important pour la régulation du métabolisme.

Constante d'équilibre d'une réaction

Toute réaction chimique atteint un équilibre au bout d'un temps long. Une réaction réversible va s'écrire :



- La vitesse de réaction qui produira C et D : $V_1 = K_1 [A] [B]$
- La vitesse de réaction qui produira A et B : $V_2 = K_2 [C] [D]$

K1 et K2 sont des constantes de vitesse de la réaction.

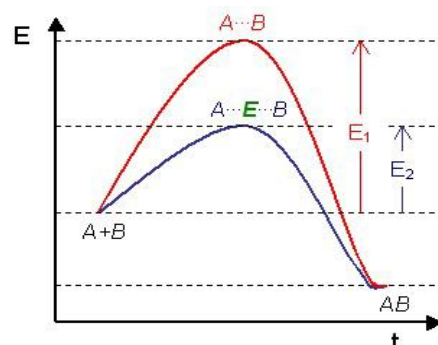
La constante d'équilibre : $K = K_1 / K_2 = [C] [D] / [A] [B]$

Energie d'activation

Energie libre moyenne qu'une molécule de complexe enzyme-substrat doit recevoir du milieu environnant pour que la réaction se produise à une vitesse donnée.

On représente sur un graphe l'énergie interne de ce complexe (A+B) en fonction du temps au cours des phases de la réaction.

Un catalyseur diminue l'**énergie d'activation** d'une réaction chimique. La courbe **bleue** représente les variations d'énergie de la réaction sans catalyseur. La **rouge**, la même réaction avec catalyseur. Sans catalyseur, il faut fournir plus d'énergie pour que la réaction se produise. Avec le catalyseur, la quantité d'énergie à fournir est plus faible; la réaction se produit plus facilement.



Chapitre 5 : Les enzymes

2. CINETIQUE DES REACTIONS ENZYMATIQUES A UN SUBSTRAT - MODELE DE MICHAELIS

2.1. Vitesse initiale de la réaction

La vitesse d'une réaction enzymatique est suivie en général par la mesure de la quantité de substrat transformé (ou quantité de produit formé) par unité de temps.

La Vitesse de la réaction à un temps t : $V = d[P] / dt$

$$V = - d [S] / dt = d [P] / dt$$

2.2. Influence de la concentration en enzyme

On voit sur la courbe que la vitesse initiale est proportionnelle à la $[E]$

2.3. Influence de la concentration en substrat

Si la $[E]$ est maintenue const. et que la $[S]$ est variée on observe une \nearrow rapide de la V , qui atteint une valeur maximale (V_{max}) et reste fixe même pour des valeurs élevées de S

Chapitre 5 : Les enzymes

2.4. Equation de Michaelis et Menten

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

La constante de Michaelis **K_m** est égale à la concentration en substrat pour laquelle la vitesse est la moitié de la vitesse maximale.

L'affinité d'une enzyme pour un substrat est égale à **1/K_m** :

K_m est élevée ⇒ l'affinité est faible

K_m est faible ⇒ l'affinité est élevée

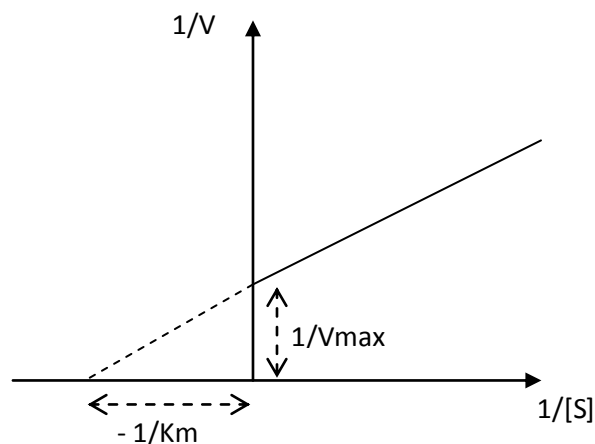
2.5. Représentation de Lineweaver et Burk

On peut écrire l'équation de Michaelis et Menten de la manière suivante :

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad \text{ou} \quad 1/V = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]} \quad \Rightarrow \quad 1/V = \left(\frac{K_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_{\max}}$$

Equation de type : $Y = a X + b$

En traçant alors le graphe $1/V = f(1/[S])$ on obtient une droite qui coupe l'axe des ordonnées à $1/V_{\max}$ et l'axe des abscisses à la valeur $-1/K_m$



$$1/V = 0 \Rightarrow$$

$$0 = (K_m/V_{\max} [S]) + 1/V_{\max}$$

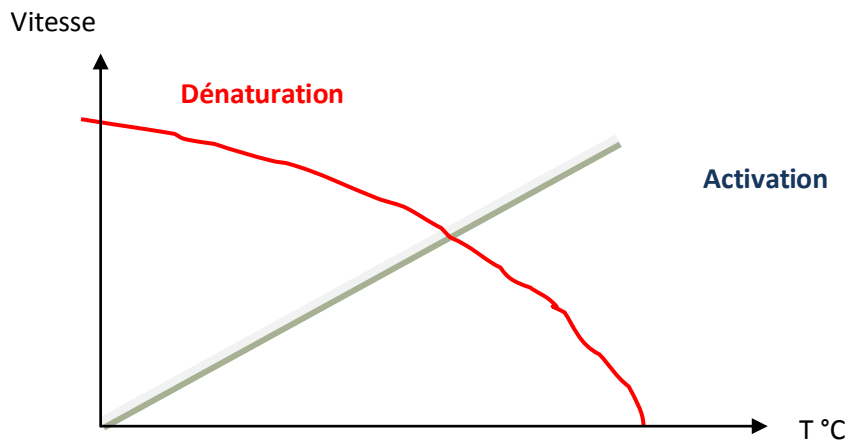
$$1/[S] = -1/K_m$$

Ainsi la représentation de Lineweaver et Burk permet de déterminer la cost. de Michaelis (**K_m**) et la vitesse maximale (**V_{max}**) pour une concentration donnée en enzyme

Chapitre 5 : Les enzymes

2.6. Influence de divers agents physiques et chimiques sur la cinétique

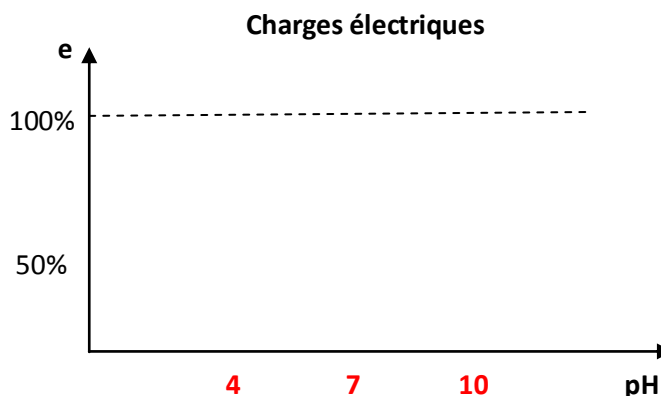
- A- La température : l'effet de la température sur la vitesse initiale comporte 2 étapes :
- Etape d'activation : la zone de température basse (0 à 40°C). Dans ce cas la vitesse de la réaction augmente grâce à l'énergie thermique.
 - Etape de dénaturation : au de là d'une certaine T°C (45°C) il y a dénaturation de la protéine.



B- Le pH :

Agit sur l'enzyme en modifiant le degré d'ionisation de certains groupements fonctionnels. Le milieu dans lequel se produit la réaction enzymatique détermine la charge électrique des radicaux des acides aminés de la protéine.

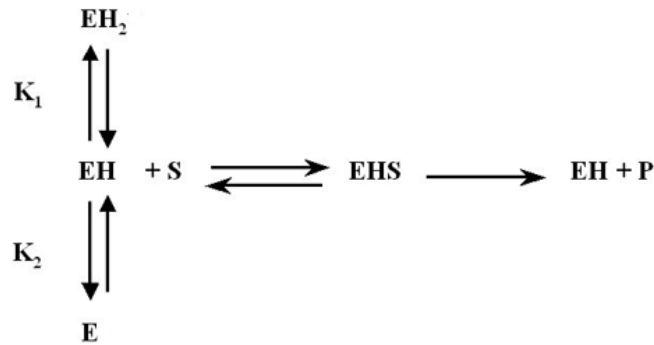
- Aux pH très acides la plupart des fonctions ionisables de ces radicaux sont sous la forme protonée c'est à dire COOH pour la fonction acide carboxylique et NH₃⁺ pour la fonction amine.
- Aux pH les plus alcalins les fonctions ionisables de ces mêmes radicaux sont sous la forme déprotonée c'est à dire COO⁻ pour la fonction acide carboxylique, et NH₂ pour la fonction amine.
- A pH voisin de la neutralité, une très grande majorité de ces radicaux à fonctions ionisables sont chargés ce qui facilite les liaisons enzyme-substrat de type électrostatique.



Chapitre 5 : Les enzymes

• pH optimum de la réaction enzymatique : Il existe donc un pH du milieu réactionnel où les charges électriques des radicaux du site actif de l'enzyme seront les plus favorables à la liaison enzyme-substrat.

Mécanisme



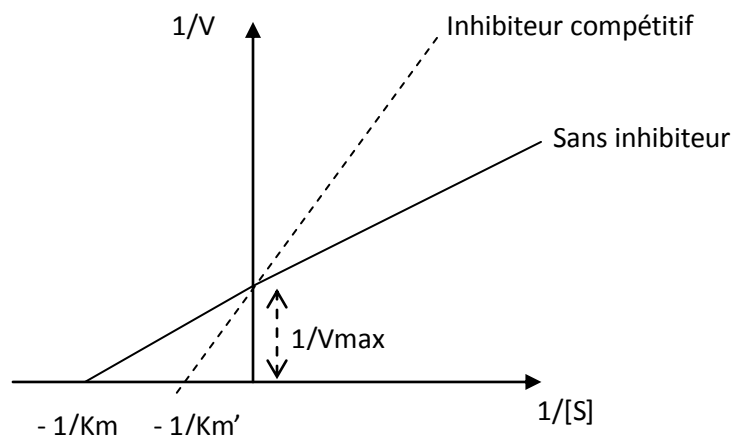
Seule la forme EH est capable de lier le substrat et de le transformer en produit.
 K_1 et K_2 sont les constantes d'acidité des chaînes latérales des AA impliqués dans la catalyse.

Les enzymes de la digestion des protéines ont des pH optimums différents :

- L'activité de **la pepsine** est maximum pour un milieu très acide comme celui de l'estomac où elle est secrétée.
- Les enzymes pancréatiques comme **l'amylase** et **la trypsine**, ont un pH optimum plus alcalin car dans le duodénum où elles exercent leur activité le pH est normalement proche de 8.

C- Les inhibiteurs :

- **Inhibiteurs compétitifs** : Ce sont des composés qui présentent une analogie structurale avec le substrat de l'enzyme et peuvent ainsi entrer en compétition avec lui pour se fixer sur le site actif de l'enzyme. L'enzyme peut donc se combiner soit au substrat, soit à l'inhibiteur. L'addition d'un IC favorise la dissociation du complexe E-S en diminuant l'affinité de l'E pour le S (K_m est élevé).

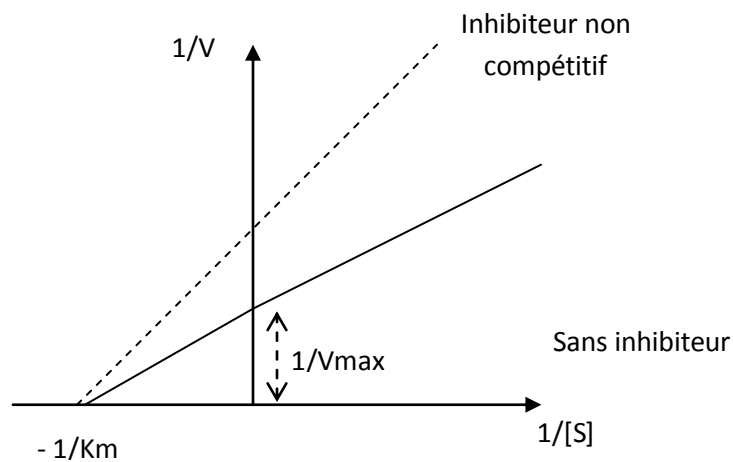


Chapitre 5 : Les enzymes

La courbe en présence d'un IC est une droite qui coupe la droite obtenue en absence d'I à une concentration élevée de S ($1/[S] = 0$)

Exemple : E : succinodéshydrogénase
S : acide succinique
IC : ac oxalique, ac malonique

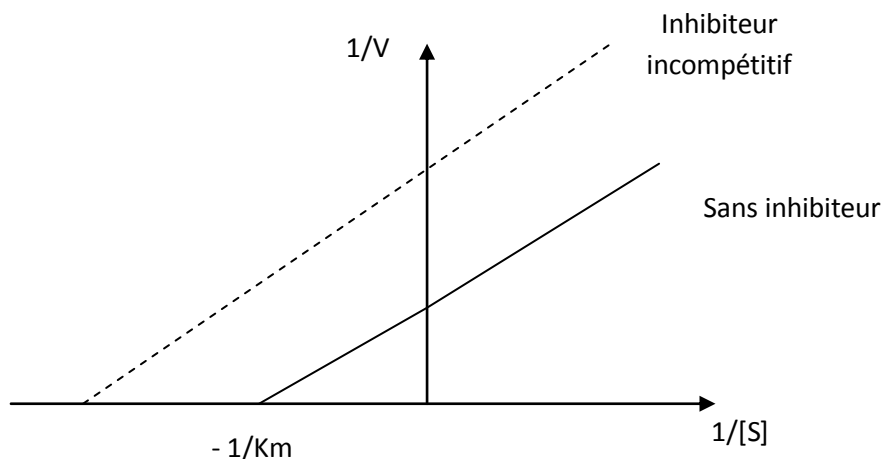
- **Inhibiteurs non compétitifs** : l'INC se fixe soit sur l'enzyme, sur un site différent du site actif sans compétition avec le substrat, soit sur le complexe E-S pour former un complexe E-S-I, soit sur les deux.



La courbe en présence d'un INC est une droite qui coupe l'axe des abscisses au même point que la droite sans inhibiteur, donc le K_m n'est pas modifié

❖ Inhibiteurs incompétitifs :

Un inhibiteur incompétitif ne se fixe que sur le complexe ES (K_i est infinie). On voit que la pente est indépendante de (I), donc toutes les droites seront parallèles.



Chapitre 5 : Les enzymes

3. Structure des enzymes

3.1. Site actif

- Le site actif des enzymes est une région privilégiée de l'enzyme qui interagit avec les substrats qui seront eux même transformés en produits.
- Il est constitué d'acides aminés de 4 types:

1/ de contact

2/ auxiliaires

3/ collaborateurs

4/ non collaborateurs.

- Ce sont finalement que quelques acides aminés de l'enzyme (**AA de contact**) qui sont nécessaires pour la catalyse. L'élimination de certains acides aminés n'entraîne pas la disparition de l'activité enzymatique.

3.2. Structures fonctionnelles des enzymes

La structure tertiaire (ou tridimensionnelle) correspondant au repliement de la protéine enzymatique qui est une structure nécessaire pour la catalyse. Elle permet la formation du site actif par rapprochement des acides aminés le constituant. Cette conformation joue, également un rôle dans la protection du site actif.

Le site actif est perçu comme un ensemble souple s'adaptant exactement à la conformation du substrat.

La structure quaternaire correspond à l'association de l'enzyme en sous unités. Elle donne les derniers ajustements conformationnels. Cette structure conduit à la notion d'isoenzymes qui sont des formes de la même enzyme catalysant la même réaction, mais dont certaines propriétés physico-chimiques (charge électrique, taille,...) sont différentes.

3.2. un coenzyme ou groupement prosthétique, molécule organique de petite taille de nature non protéique :

A/ Les ions métalliques : les enzymes activées par ces ions sont appelées métalloenzymes, l'ion est fourni par l'alimentation sous forme de cation :

Zn⁺² : c'est le métal plus utilisé, il est fortement lié à l'enzyme , il participe à la reconnaissance du substrat.

Mg⁺², Ca⁺², Na⁺ et K⁺

B/ Les co-enzymes : ce sont des molécules organiques, de petite taille par rapport à la protéine enzymatique. Les principaux co-enzymes sont classés selon la réaction qu'ils catalysent :

B.1. Réaction d'oxydo-réduction :

Chapitre 5 : Les enzymes

- Nicotinamide Adénine Dinucléotide (**NAD**) : sa structure comporte 2 nucléotides : adénine et nicotinamide, qui sont reliés par une liaison phosphate. Le NAD est le co-E de divers DH, il fixe l'H provenant du S et se transforme en NADH + H⁺.
- Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (**NADP**) : c'est également un co-E de certaines DH, il est très voisin du NAD mais diffère par un résidu phosphate supplémentaire sur l'adénine.
- Flavine Adénine Dinucléotide (**FAD**) : c'est un co-E des DH, caractérisé par la coloration jaune due au noyau flavine, il dérive de la riboflavine (ou vitamine B2).

B.2. Transfert de groupement :

- Thiamine Pyrophosphate (**TPP**) : dérive de la vitamine B1, il fait partie du site actif des carboxylases.
- **Co-enzyme A** : Ac pantothénique (vit B) + Adénosine diP + groupement thiol (la partie active de la molécule).

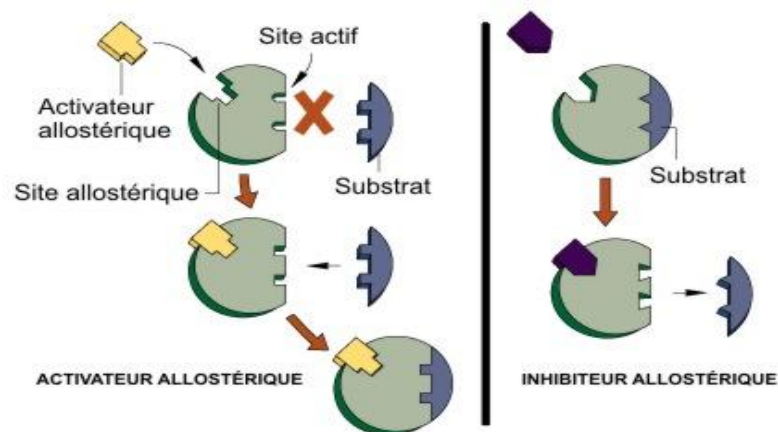
L'exemple connu est l'acétyl co-enzyme A qui transfère des radicaux acyle au cours de la biosynthèse des AG.

4. Les enzymes allostériques

Les enzymes dites **allostériques** possèdent, en plus de leur site actif, un site appelé **site allostérique**. Une substance appelée **effecteur** peut se fixer sur ce site. Il a pour effet de bloquer l'enzyme dans sa forme active ou dans sa forme inactive. On parle alors d'effecteur **inhibiteur** et d'effecteur **activateur**.

Activateur allostérique : se fixe sur le site allostérique en entraînant une modification de la conformation du site actif de l'enzyme. Ce site devient plus favorable à recevoir le substrat ⇒ l'affinité de l'E pour le S augmente.

Inhibiteur allostérique : se fixe sur le site allostérique en entraînant une modification du site actif de l'enzyme qui va prendre une conformation moins favorable à la fixation du S ⇒ l'affinité de l'E pour le S diminue.



Chapitre 5 : Les enzymes

5. Classification des enzymes

La nomenclature EC : (EC, la Commission des enzymes) est une classification numérique des enzymes, basée sur la réaction chimique qu'elles catalysent.

Chaque code d'enzyme consiste en les lettres majuscules « EC » suivies de 4 nombres séparés par des points. Ces 4 nombres désignent chacun une caractéristique de l'enzyme qui permet de l'identifier :

Le premier nombre de la nomenclature EC indique le type de réaction catalysée

Le second le substrat général impliqué lors de la réaction

Le troisième le substrat spécifique impliqué.

Le quatrième le numéro de série de l'enzyme.

Exemple : l'enzyme tripeptide aminopeptidase a le code EC 3.4.11.4

3 : une hydrolase (enzymes qui utilisent l'eau pour détruire une autre molécule),

3.4 : hydrolases agissant sur des liens peptidiques,

3.4.11 : implique celles qui détachent un acide aminé N-terminal d'un tripeptide

3.4.11.4 : l'enzyme appartient au groupe 4.

Les principaux groupes d'enzymes :

1. Oxydoréductases (EC 1)

Catalysent les réactions d'oxydoréduction

1.1. Enzymes agissant sur un groupement donneur d'H :

Lactate déshydrogénase : NAD^+ comme accepteur d'H.

Glucose oxydase : l'O_2 comme accepteur d'H.

1.2. Enzymes agissant sur un groupement aldéhyde ou cétone :

Glycéraldéhyde-3-P oxydoréductase

1.3. Enzymes agissant sur un groupement amine :

Glutamate : NAD^+ comme accepteur d'H.

2. Transférases (EC 2)

Transfèrent un groupement fonctionnel

2.1. Transfert d'un groupement monocarboné :

Méthyltransférases

2.2. Acyl transférases

2.3. Glycosyl transférases

2.4. Amino transférases

2.5. Phosphoryl transférases (ATP)

3. Hydrolases (EC 3)

Catalysent l'hydrolyse de diverses liaisons

Chapitre 5 : Les enzymes

3.1. Liaisons esters :

Lipase ou glycérol ester hydrolase
Ribonucléases et Désoxyribonucléases

3.2. Liaisons osidiques

Glucosidases

3.3. Liaisons peptidiques

Aminopeptidases
Trypsine (endopeptidase)

4. Les lyases (EC4)

Catalysent le clivage de diverses liaisons par d'autres procédés que l'hydrolyse (souvent par création d'une double liaison ou au contraire l'addition d'un groupement) :

4.1. C-C lyases :

Caroxylases et Décarboxylases
Aldolase (aldéhyde lyase)

4.2. C-O lyases :

4.3. C-N lyases :

Ammoniac lyase (aspartate ammonium lyase)

5. Isomérase (EC 5)

Catalysent les réactions d'isomérisation dans une simple molécule

5.1. Racemases et épimérase

Alanine racemase (agit sur les aa)
Ribulose épimérase (agit sur les oses)

5.2. Cis-Trans isomérase

5.3. Oxydo-réductases intramoléculaires :

Triose phosphate isomérase (catalyse l'inter conversion aldose-cétose)

5.4. Transférases intramoléculaires :

Mutase

6. Ligases (Synthétases) (EC 6)

Enzymes permettant l'union de 2 molécules par des liaisons covalentes

6.1. Formation de liaisons C-O :

Aminoacide tRNA ligase

6.2. Formation de liaisons C-S :

Acétyl coA synthétase

6.3. Formation de liaisons C-N :

glutamine synthétase

6.4. Formation de liaisons C-C :