

Enzymes

- Définitions – Classification
- Catalyse enzymatique
- Cinétique michaelienne
- Détermination d'une activité enzymatique
- Effecteurs
- Mécanismes de régulation - Allostérie
- Coenzymes

Références bibliographiques

- C. Moussard, [Biochimie Structurale et Métabolique](#), 3ème éd., De Boeck, 2006
- R.K. Murray et al. [Biochimie de Harper](#), 3ème éd. française, De Boeck, 2008
- S. Weinman et P. Méhul, [Toute la Biochimie](#), Dunod, 2004
- B. Sablonnière et al. [Biochimie et Biologie Moléculaire](#), Omniscience, 2006

1. Définition

Enzyme: « protéine* jouant le rôle de catalyseurs de réactions chimiques chez les êtres vivants »

- accélère une réaction thermodynamiquement possible

« substrat(s) » → « produit(s) »

- efficacité
- spécificité d'action élevée (type de réaction, nature des substrats, stéréospécificité)
- ni consommé ni modifié à la fin de la réaction

(* Sauf ribozymes: ARN à action catalytique)

1. Classification - Nomenclature

- Nomenclature: type de réaction + ase
- **Classification** internationale (IUPAC-IUBMB)
 - EC 1: oxydo-réductases
 - EC 2: transférase
 - EC 3: hydrolases
 - EC 4: lyases
 - EC 5: isomérases
 - EC 6: ligases

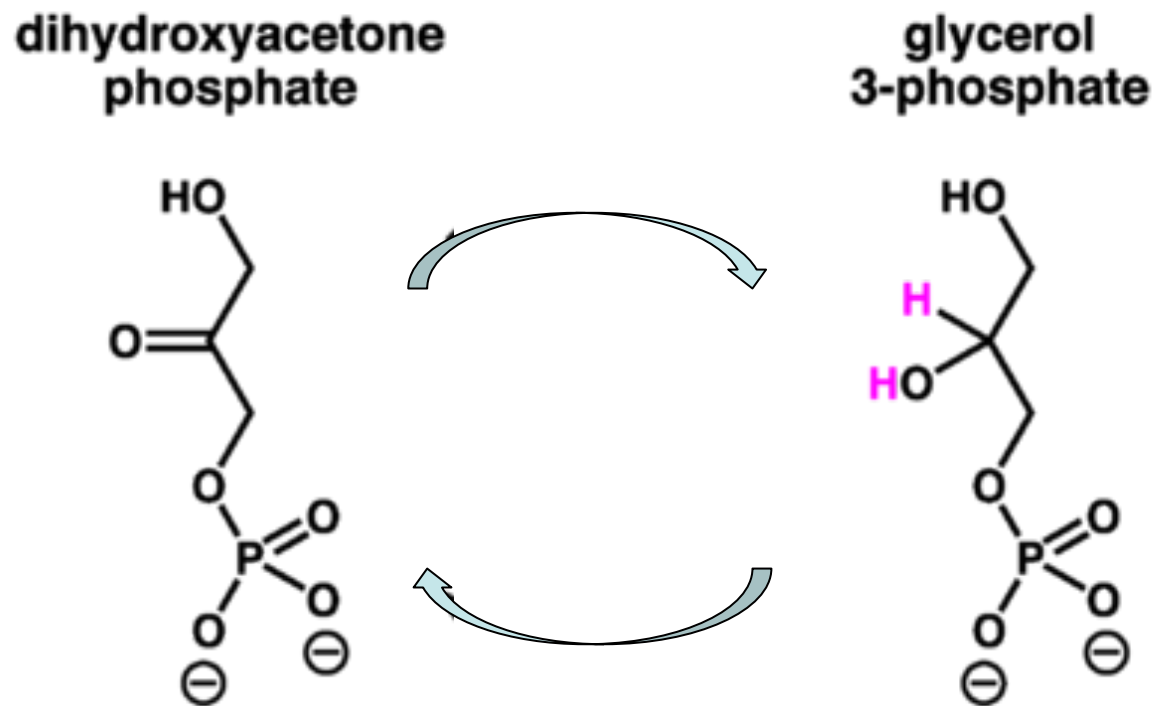
Ex: Hexokinase = EC 2.7.1.1 (ATP:D-hexose 6-phosphotransférase)

- **Isoenzymes**: propriétés catalytiques identiques mais propriétés physico-chimiques distinctes

1. Classification (suite)

EC 1: oxydo-réductases

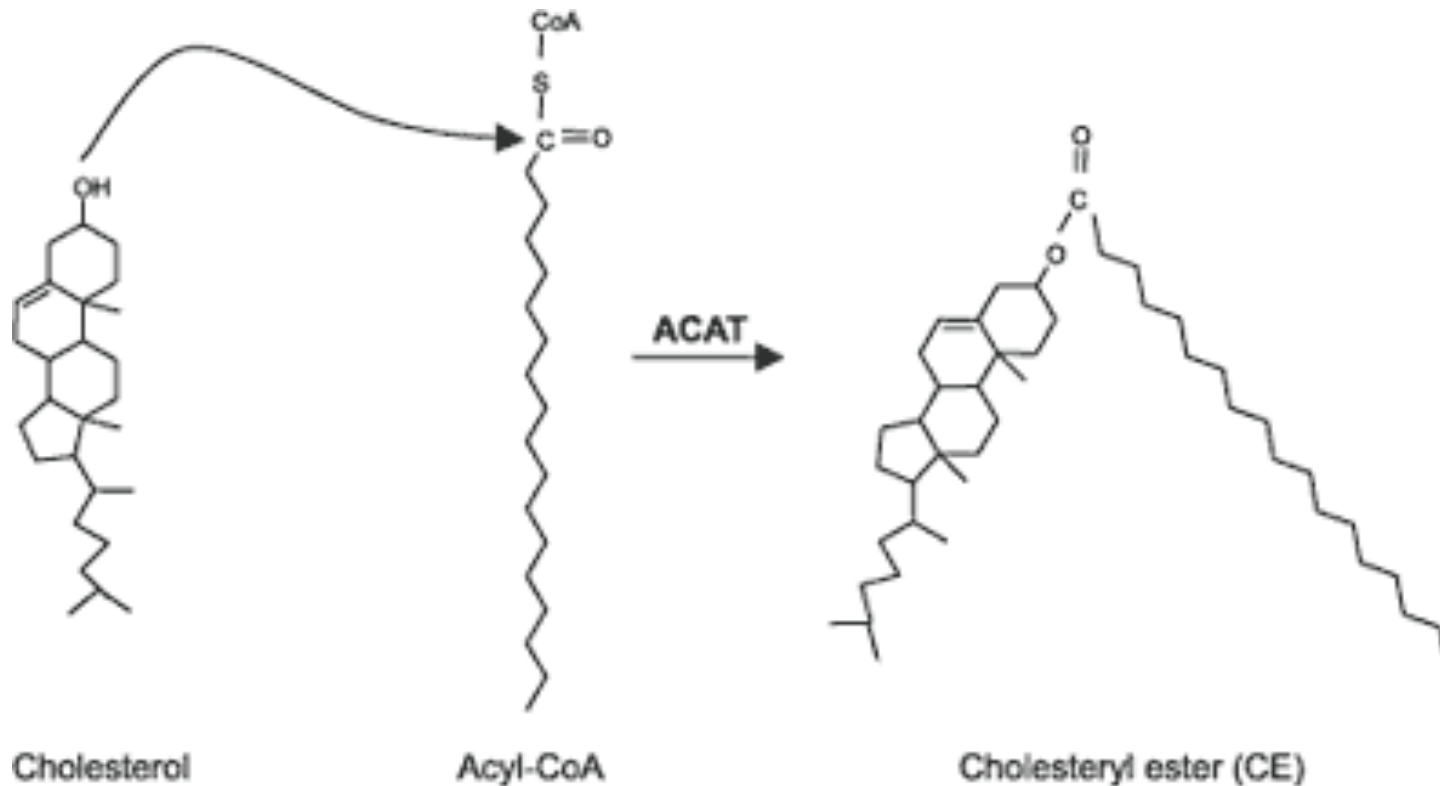
- Catalysent les réactions de transfert d'électrons
- Ex: *glycérol-3-phosphate deshydrogénase*



1. Classification (suite)

EC 2: transférase

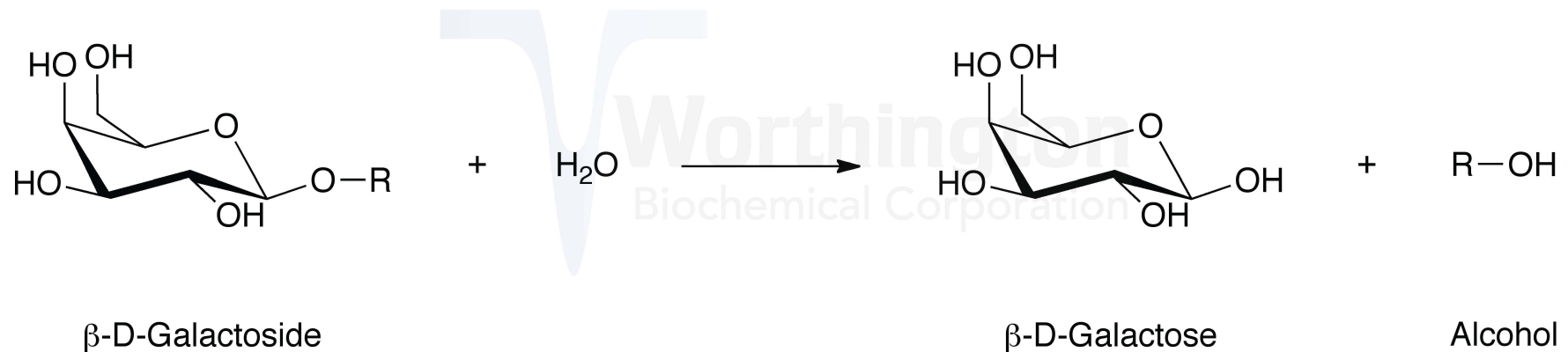
- Catalysent les réactions de transfert d'atome ou de groupements d'atomes
- Ex: *Acyl-CoA:cholestérol acyltransférase (ACAT)*



1. Classification (suite)

EC 3: hydrolases

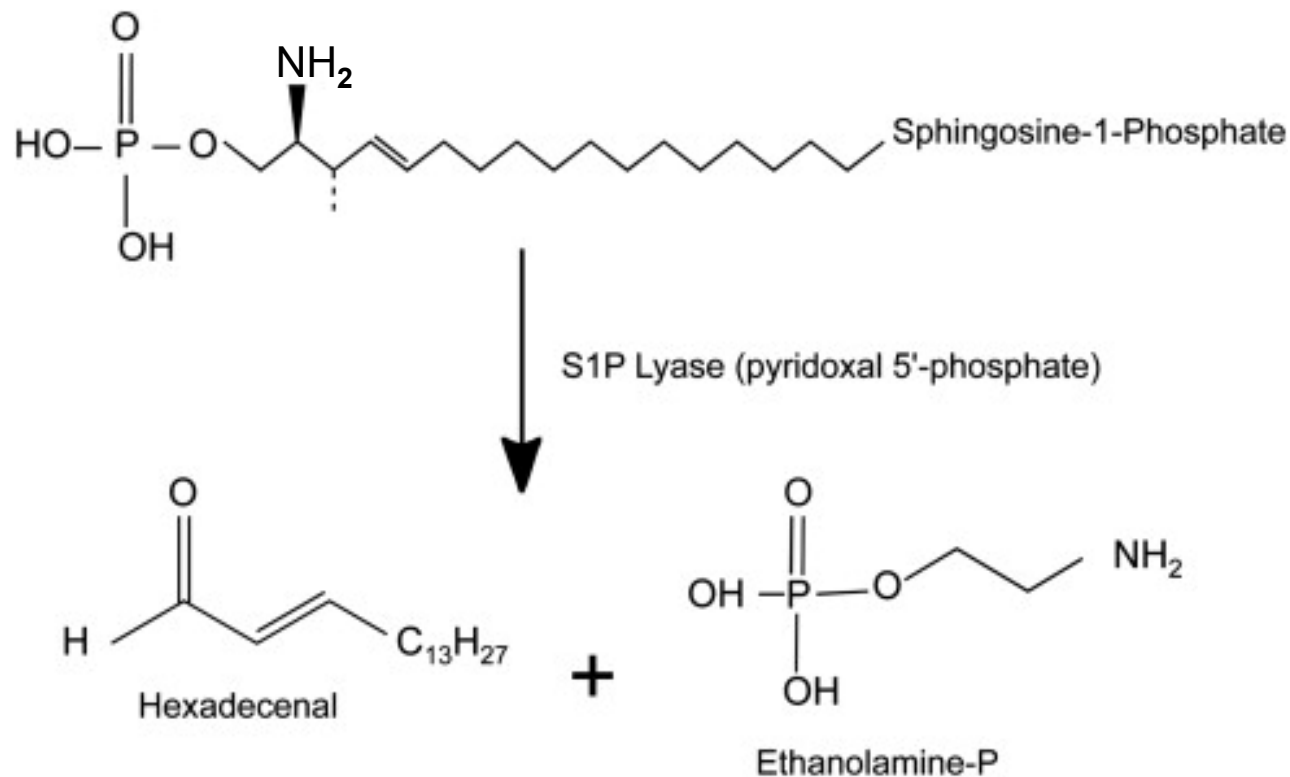
- Catalysent les réactions de coupure de liaison par l'eau
- Ex: *β-galactosidase*



1. Classification (suite)

EC 4: lyases (synthases)

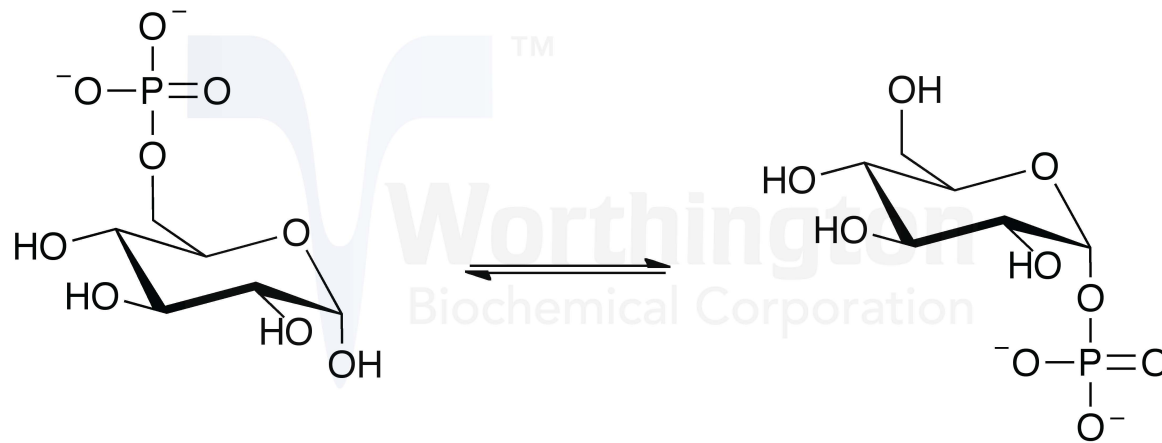
- Catalysent les réactions de coupure de liaison autrement que par l'eau
- Ex: *sphingosine 1-phosphate lyase*



1. Classification (suite)

EC 5: isomérases (racémases, épimérases, mutases)

- Catalysent les réactions d'isomérisation
- Ex: *phosphoglucomutase*



α -D-Glucose-6-phosphate

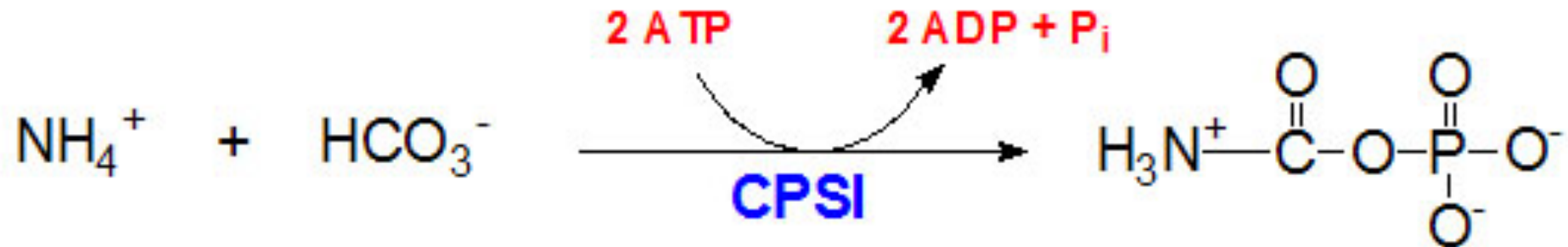
α -D-Glucose-1-phosphate

- Autre ex: *phosphohexose isomérase* (G6P \rightarrow F6P)

1. Classification (suite)

EC 6: ligases (synthétases)

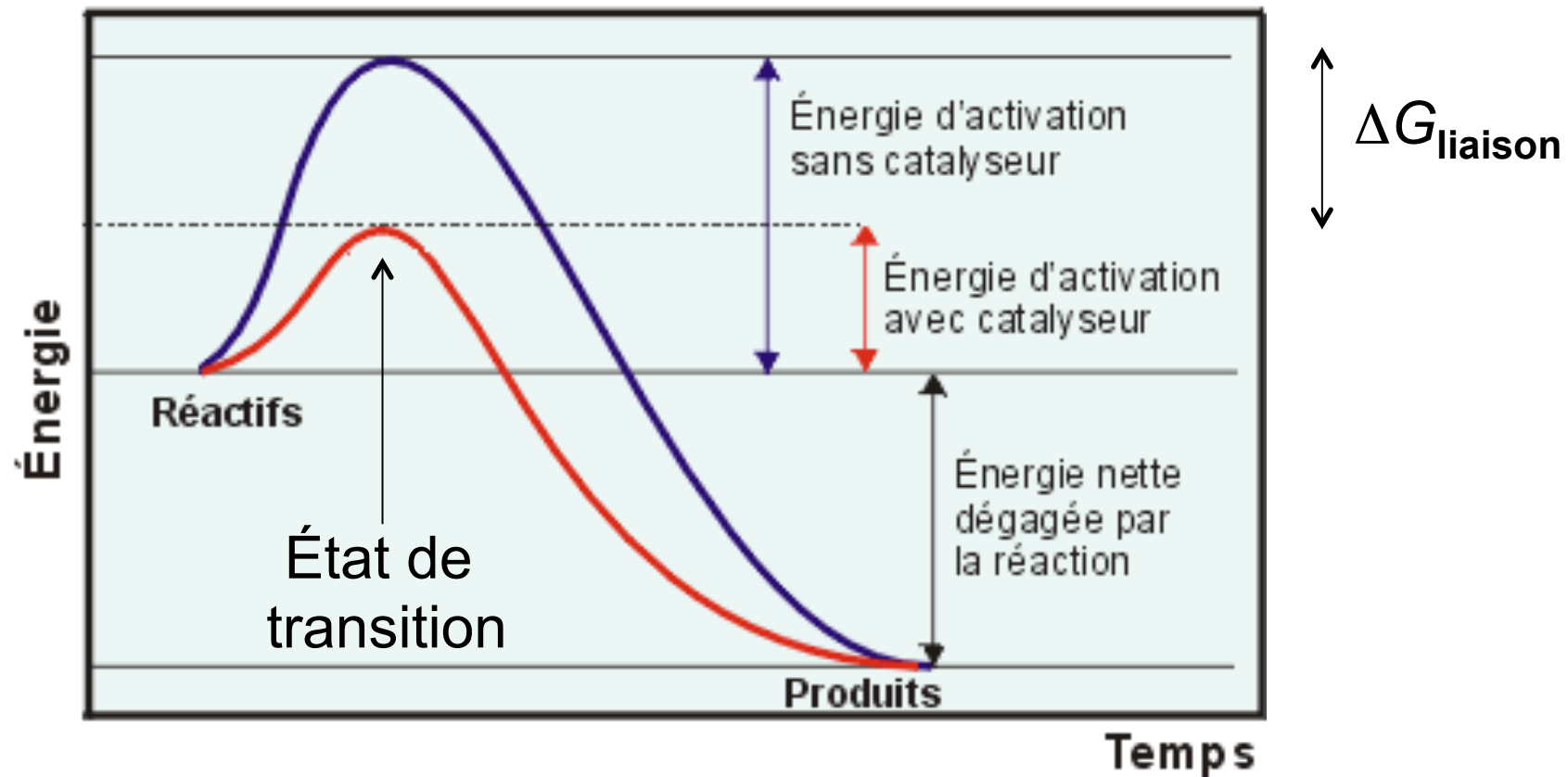
- Catalysent les réactions de création de liaison par couplage à l'hydrolyse d'ATP
- Ex: *carbamoyl phosphate synthétase*



2. Notions de catalyse enzymatique

- Pouvoir catalytique

Les enzymes diminuent l'énergie libre d'activation ΔG^0



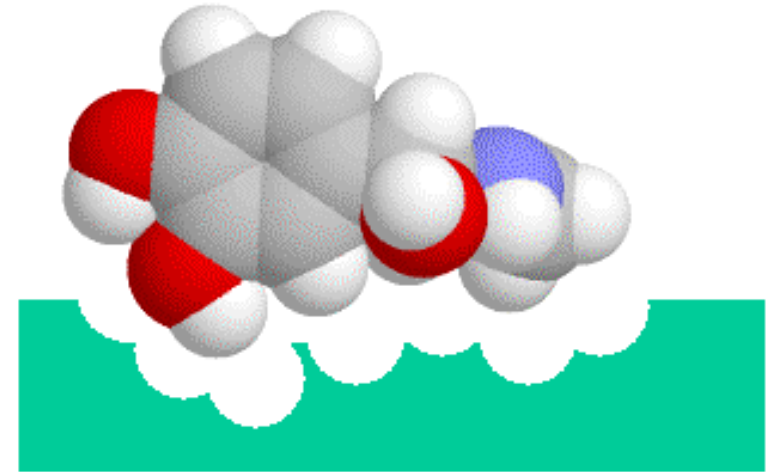
2. Notions de catalyse enzymatique (suite)

- Site actif

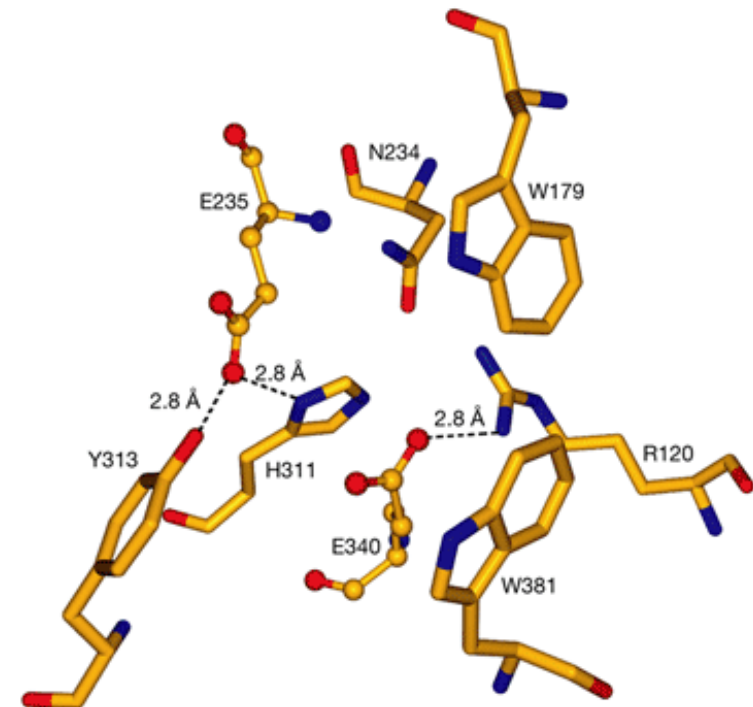
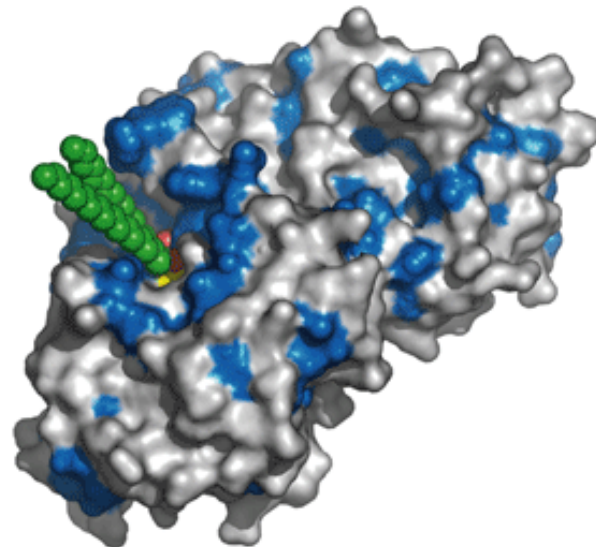
Région de l'enzyme où se fixe(nt)
le(s) substrat(s) [+ coenzymes] et
où a lieu la réaction

= poche ou sillon

*Liaisons faibles avec certains résidus
d'AA*



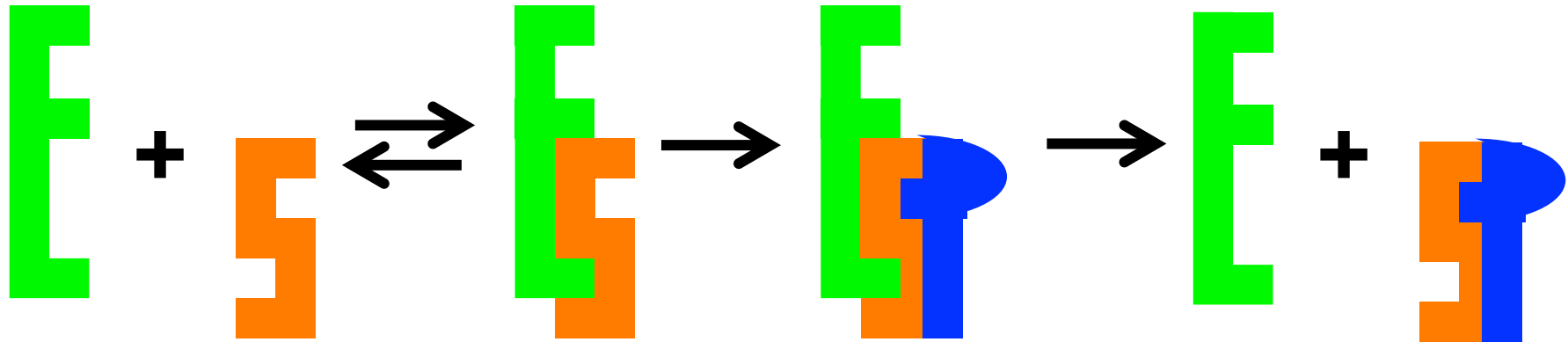
β -glucosyl-
cér amidase



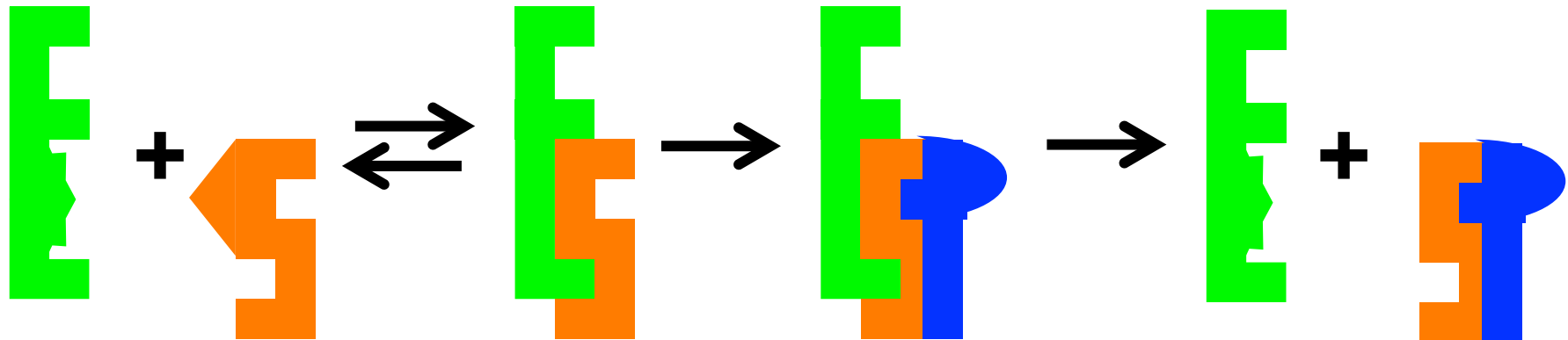
2. Notions de catalyse enzymatique (suite)

- Site actif: interaction enzyme-substrat

- Modèle « clé-serrure »

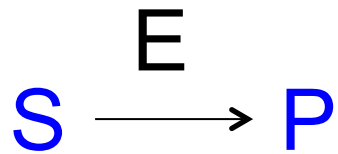


- Modèle de l'ajustement induit



3. Cinétique enzymatique

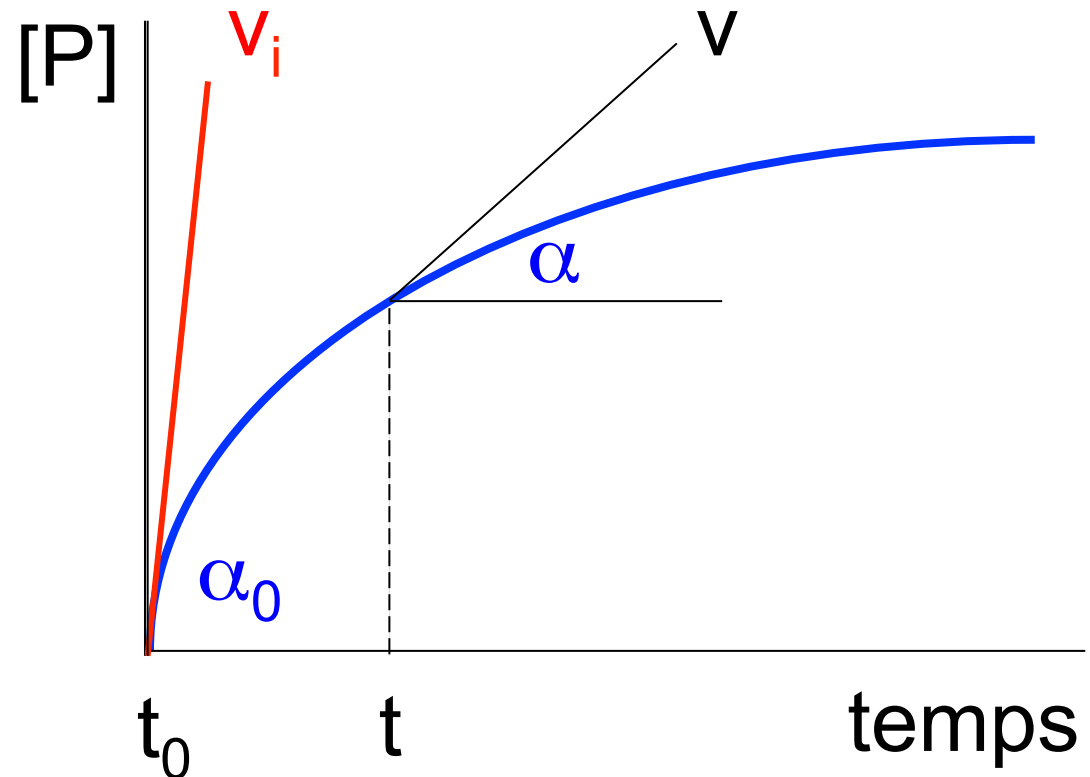
- Notion de **vitesse initiale** (v_i)



$$v = - \frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

- à l'instant t_0

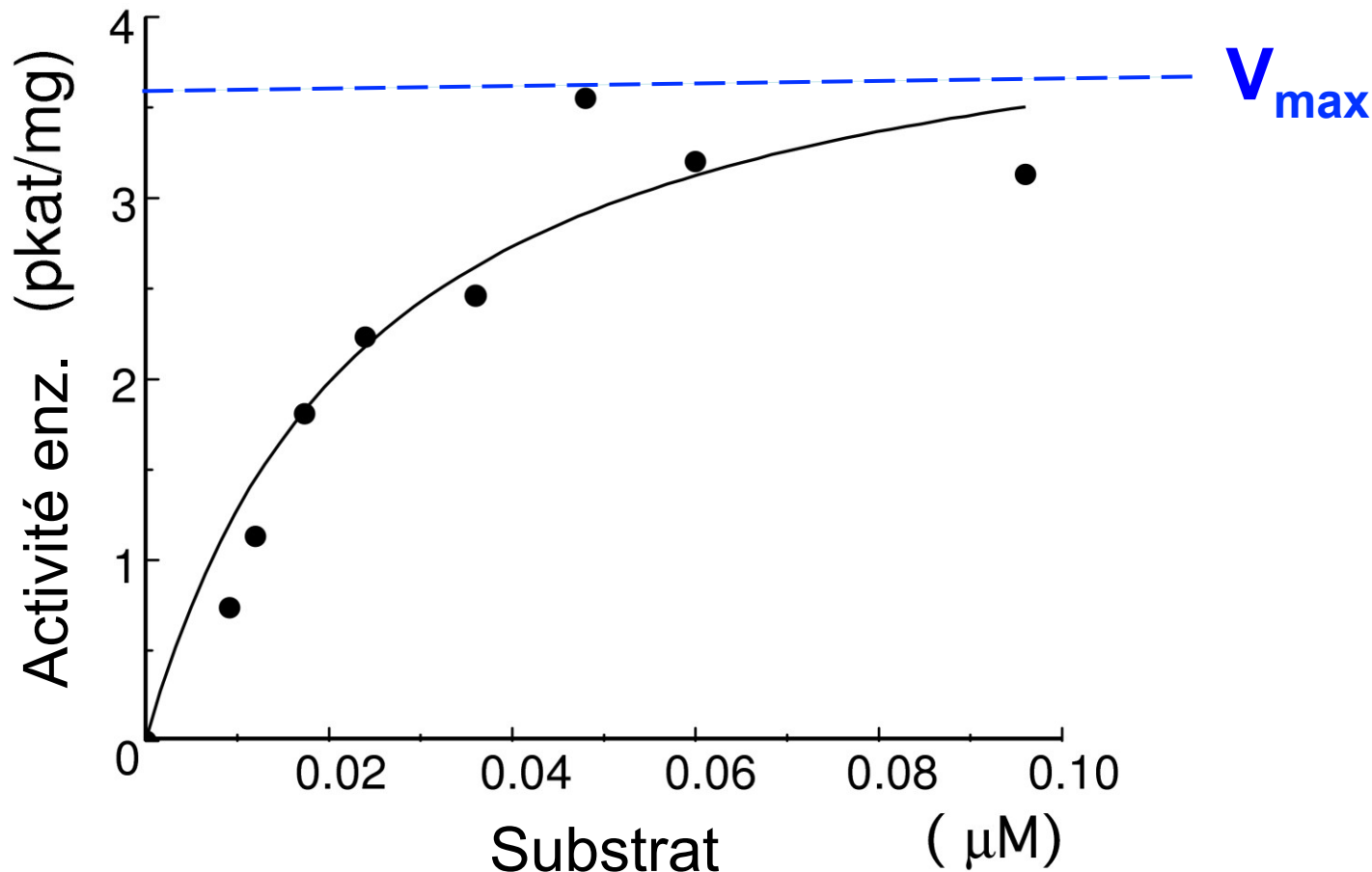
$$v_i = \operatorname{tg} \alpha_0$$



3. Cinétique enzymatique (suite)

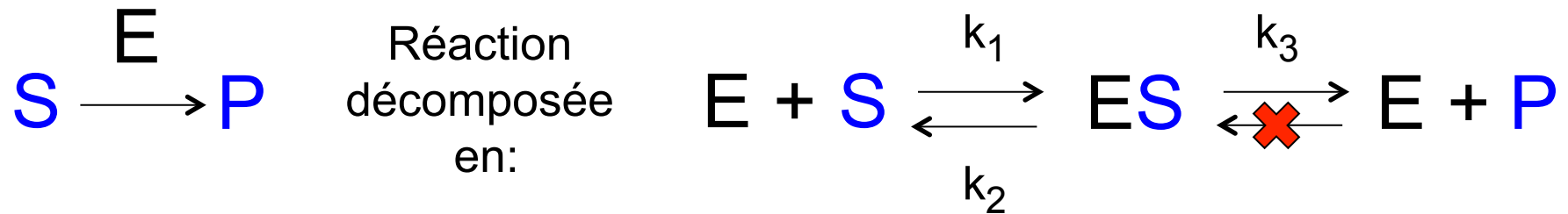
- la concentration en substrat affecte la vitesse

$$v_i = f([S]) \text{ pour } [E] \text{ constante}$$



3. Cinétique enzymatique (suite)

- équation de L. Michaelis et M. Menten (1913)



$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = K_M$$

Constante de Michaelis-Menten

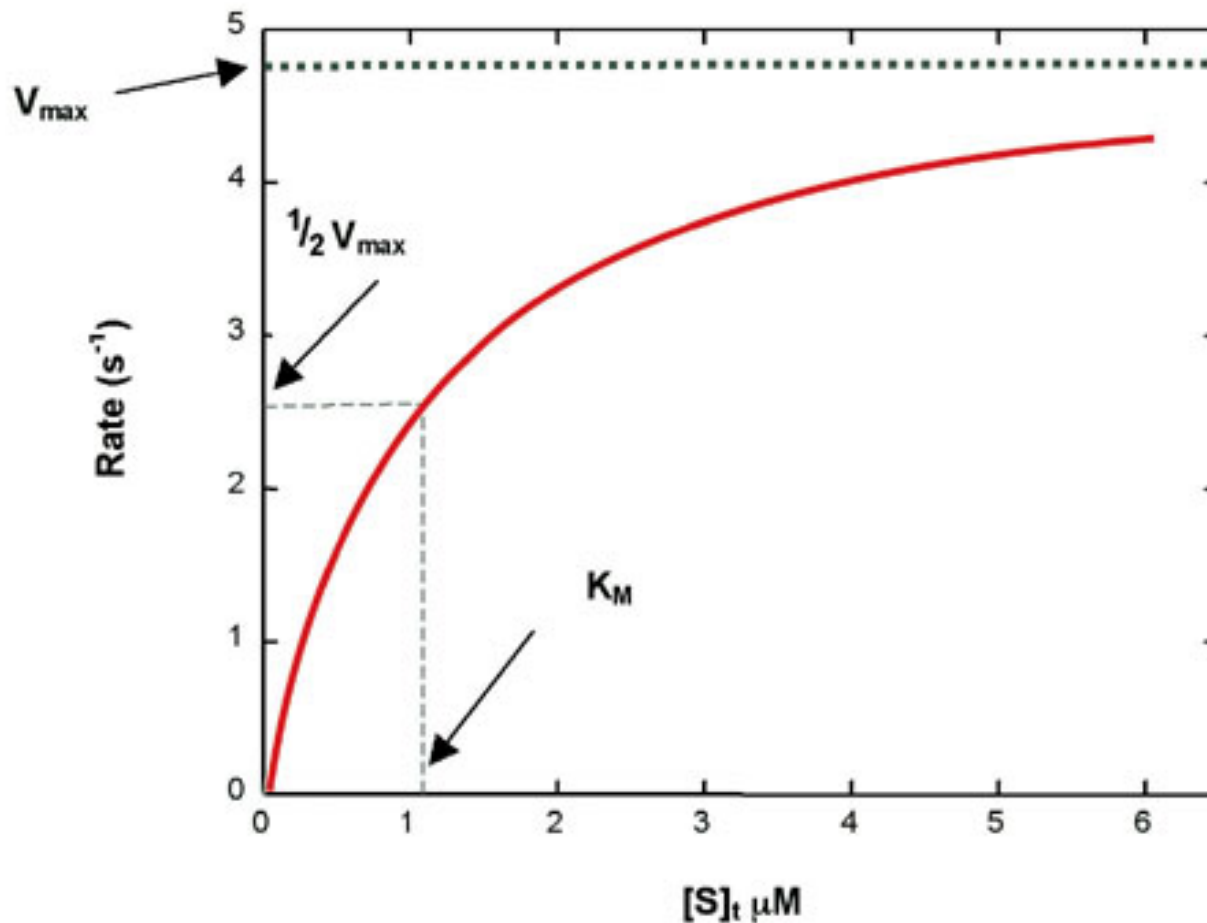
Equation de Michaelis-Menten :

$$v_i = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

$$\text{car: } v = k_3 [ES] \quad V_{\max} = k_3 [E_{\text{total}}] \quad \text{et} \quad [E] = [E_{\text{total}}] - [ES]$$

3. Cinétique enzymatique (suite)

- cinétique « Michaelienne » : représentation graphique



$$v_i = V_{\max} \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

pour $v_i = \frac{V_{\max}}{2}$

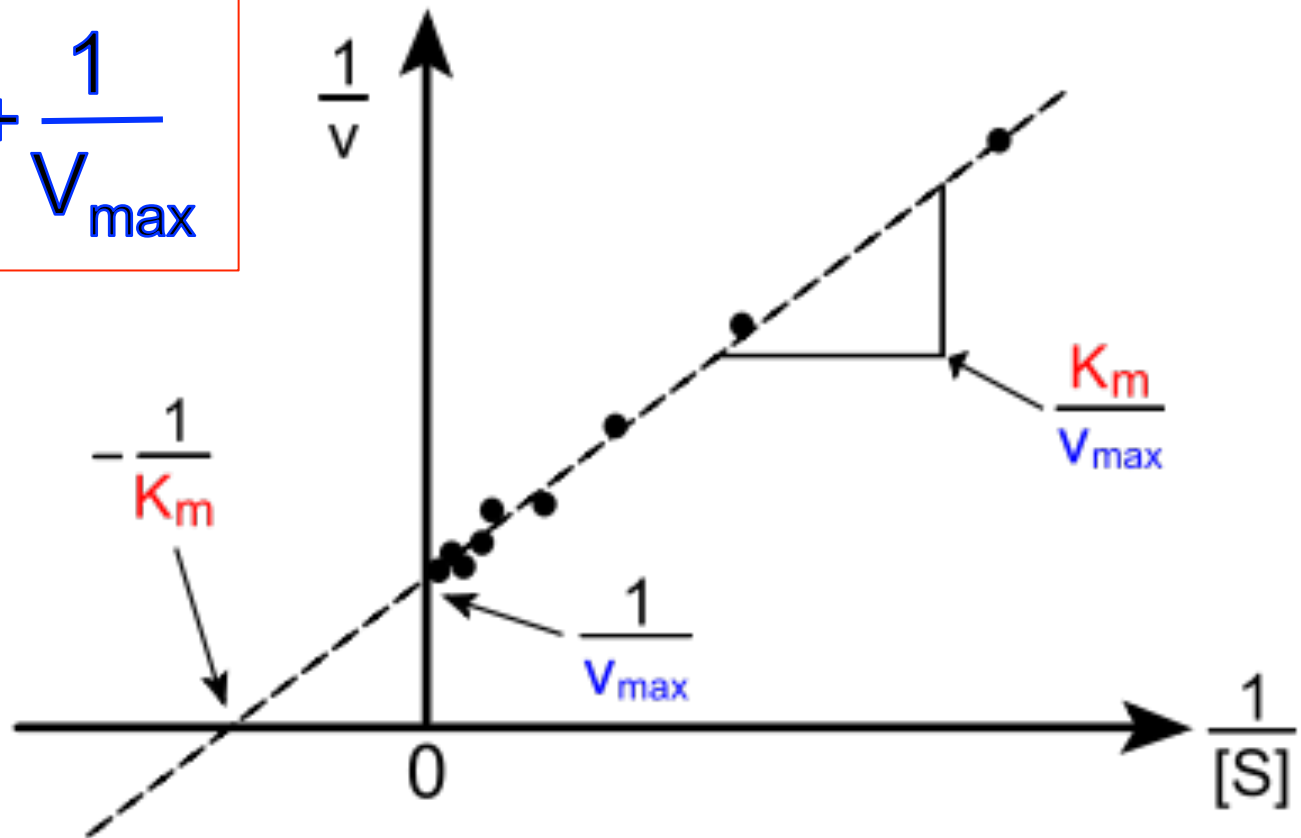
$$[S] = K_M$$

3. Cinétique enzymatique (suite)

- cinétique « Michaelienne » :
représentation graphique selon Lineweaver et Burk

$$\frac{1}{v_i} = \frac{K_M}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Détermination
expérimentale
de V_{\max} et K_M



3. Cinétique enzymatique (suite)

- Signification des paramètres cinétiques

V_{\max} : vitesse quand E saturée en S

K_M : concentration de S quand E à demi-saturation

pour $k_3 \ll k_1$:

K_M inversement proportionnel à l'**affinité** de E pour S

Conséquences pratiques:

- si $[S] \gg K_M$: $v_i \approx V_{\max} = k_3 [E_{\text{total}}]$

c'est en excès de S que l'on dose une E

- si $[S] \ll K_M$: $v_i \approx k [S]$

c'est en excès de E que l'on dose un S

4. Détermination d'une activité enzymatique

- Unités de mesure

1 UI = quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de 1 μ mole de S par minute (dans des conditions définies)

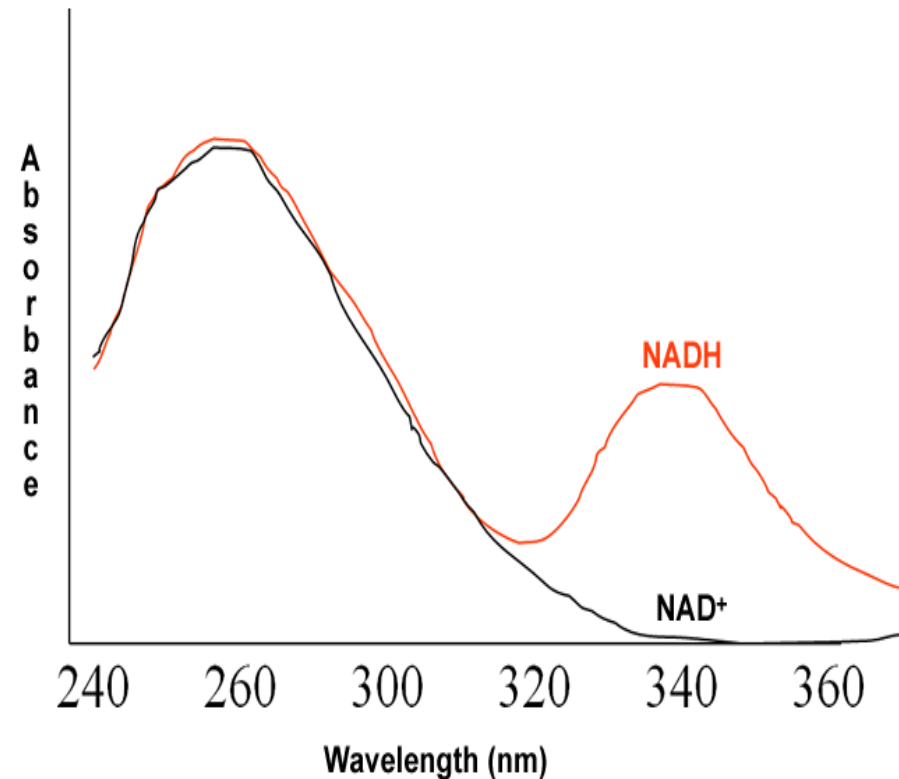
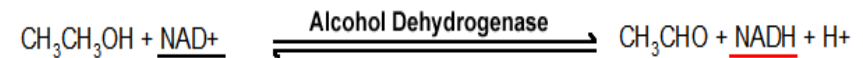
1 katal (kat) = quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de 1 mole de S par seconde

Par rapport à une unité de volume ou de masse de E
= **Activité enzymatique spécifique**

ex: N μ mol. min⁻¹. mg⁻¹ de protéines

4. Détermination d'une activité enzymatique (suite)

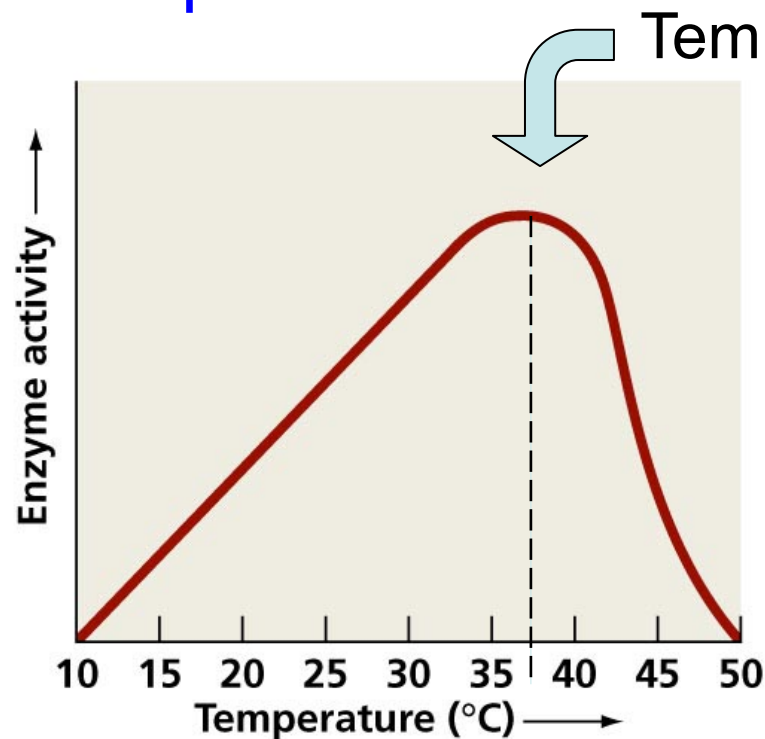
- Conditions
 - [S] saturante
 - Température et pH optimaux
- Moyens:
 - [S] marqué (radioactif, coloré, fluorescent, chromogénique, fluorogénique,...)
 - Coenzyme (ex: dosage d'une deshydrogénase par NADH)



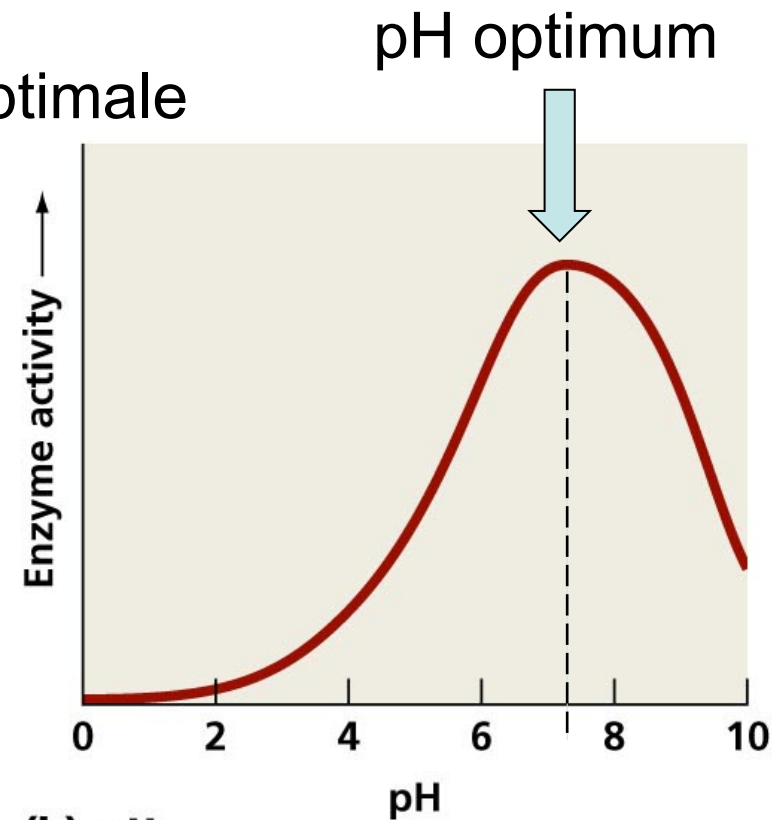
5. Effecteurs

5.1. Facteurs physico-chimiques

- Température
- pH



(a) Temperature



(b) pH

5. Effecteurs (suite)

5.2. Effecteurs chimiques

- **Activateurs** (cf. aussi Régulation)

ions métalliques (Mg^{2+} , Zn^{2+} ,...)

- **Inhibiteurs**

- **inhibiteurs irréversibles**: se lient de façon covalente à un groupement fonctionnel de l'enzyme (site actif) → inactivation

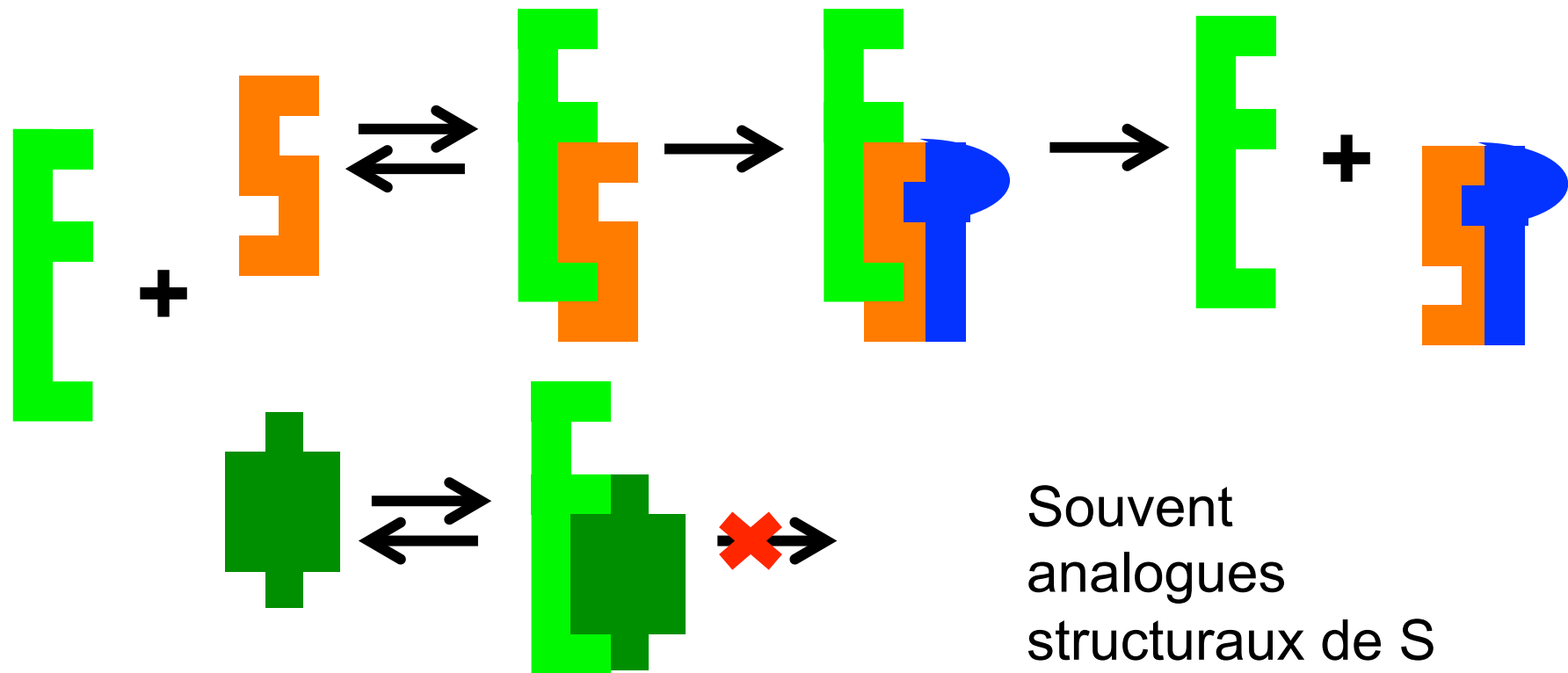
Ex: 5-FU et thymidylate synthase (« substrat suicide »)

- **inhibiteurs réversibles**

5. Effecteurs: inhibiteurs réversibles

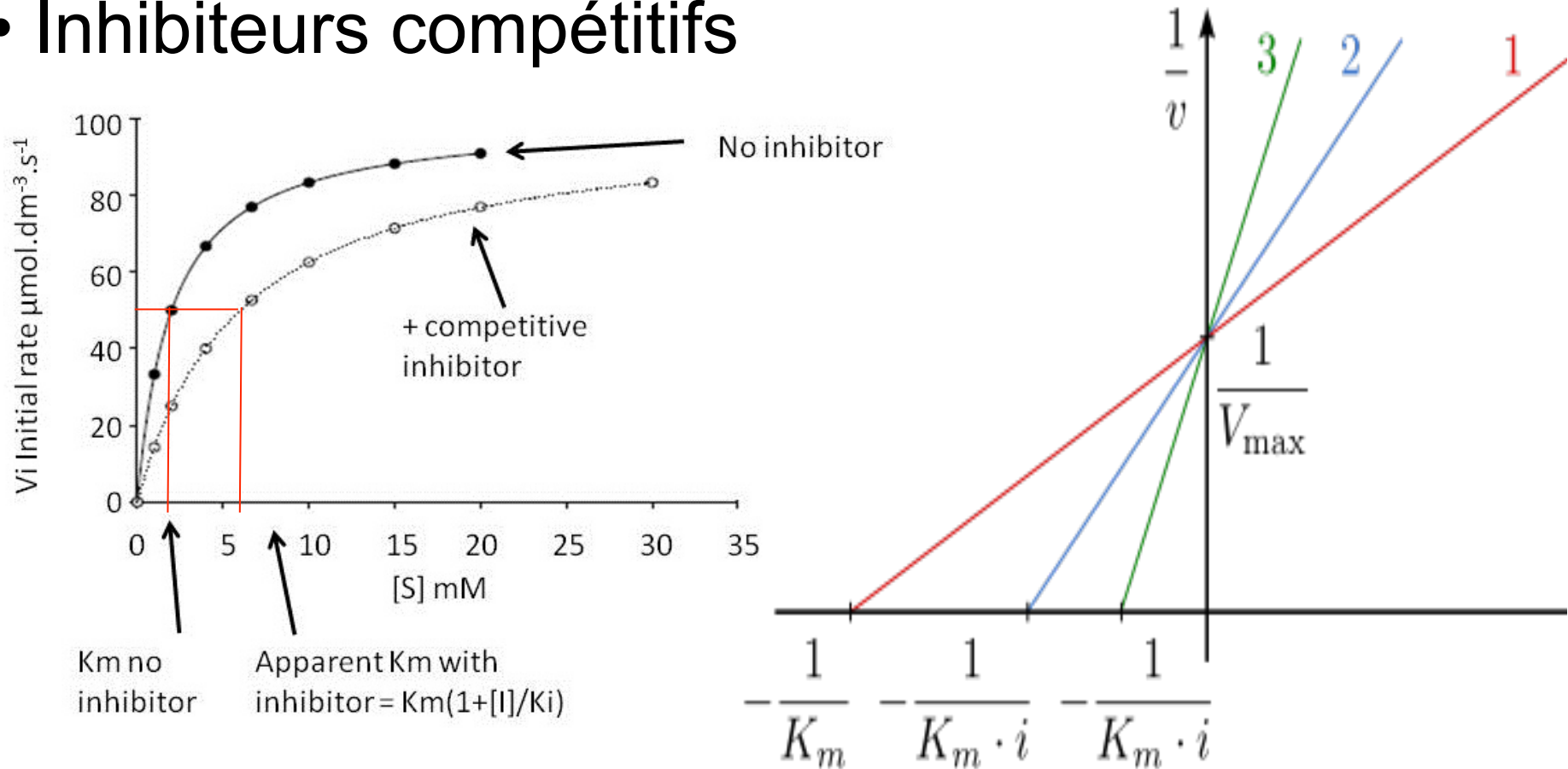
- Inhibiteurs compétitifs

Liaison non covalente au site actif de E à la place de S



5. Effecteurs: inhibiteurs réversibles

- Inhibiteurs compétitifs



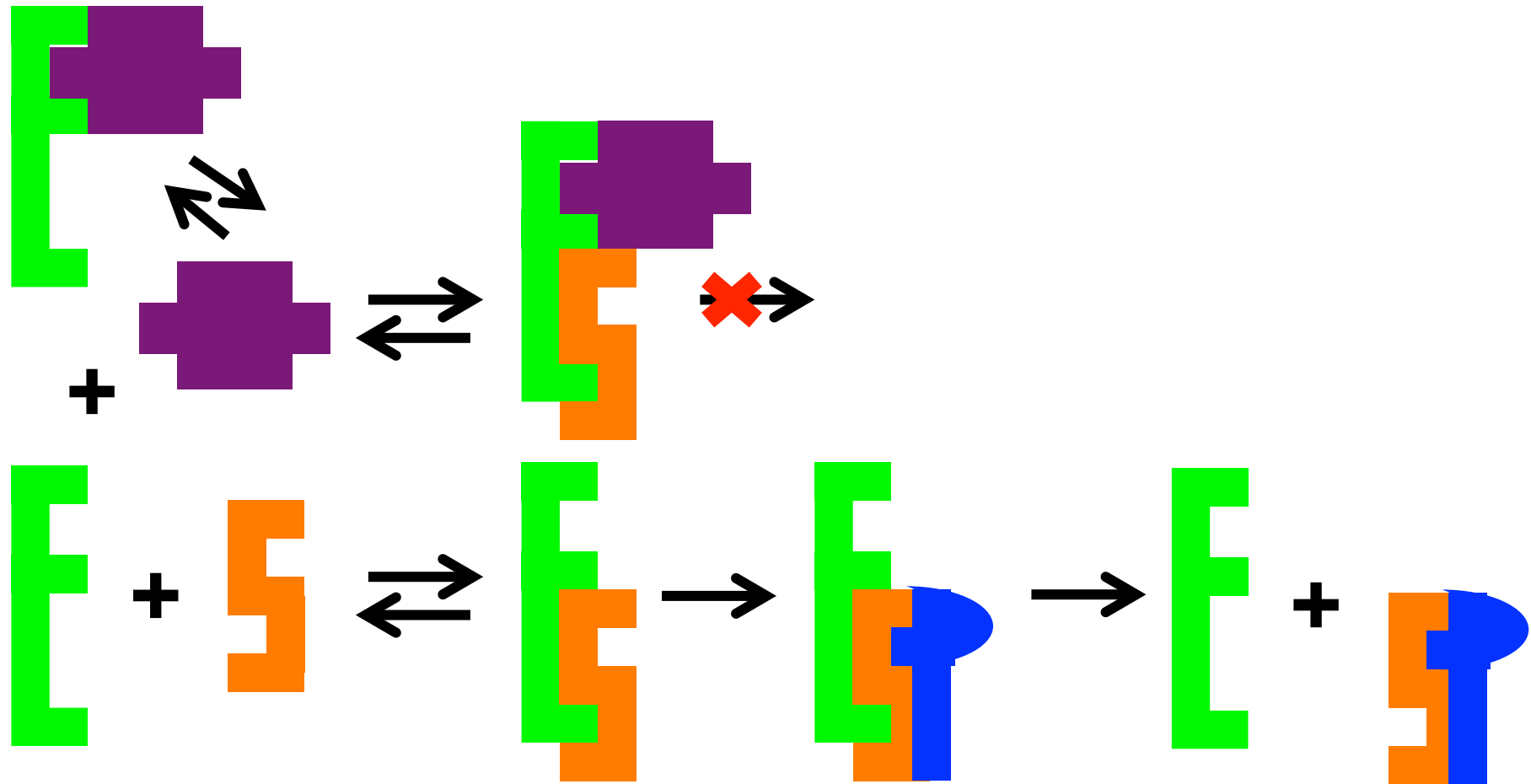
➔ Affinité de E pour S \searrow ➔ K_M apparent \nearrow

(V_{max} intacte, car I déplacé par un excès de S)

5. Effecteurs: inhibiteurs réversibles

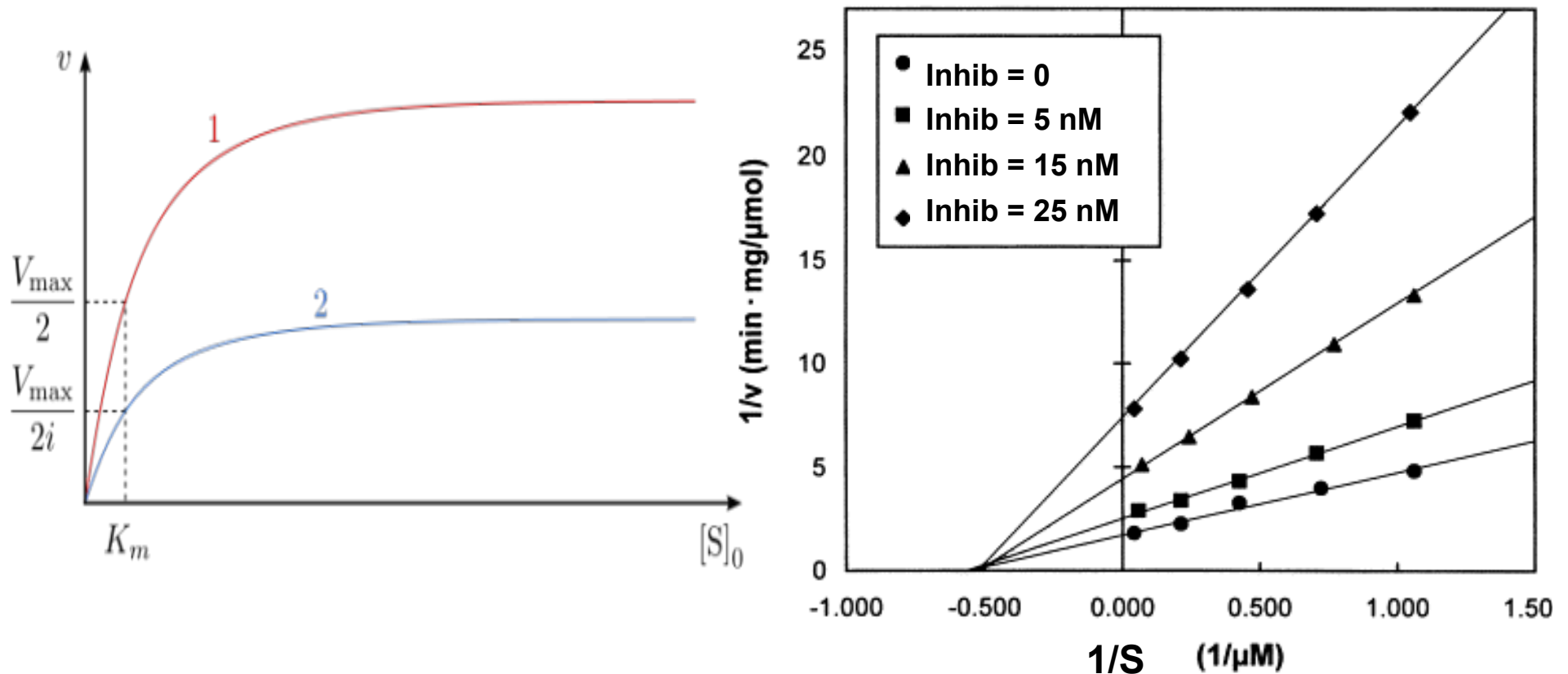
- Inhibiteurs NON compétitifs

Liaison non covalente à un site différent du site actif



5. Effecteurs: inhibiteurs réversibles

- Inhibiteurs NON compétitifs



➔ Affinité de E pour S inchangée

➔ $V_{\max} \searrow$ (K_M inchangé) comme si $[E_{\text{total}}] \searrow$

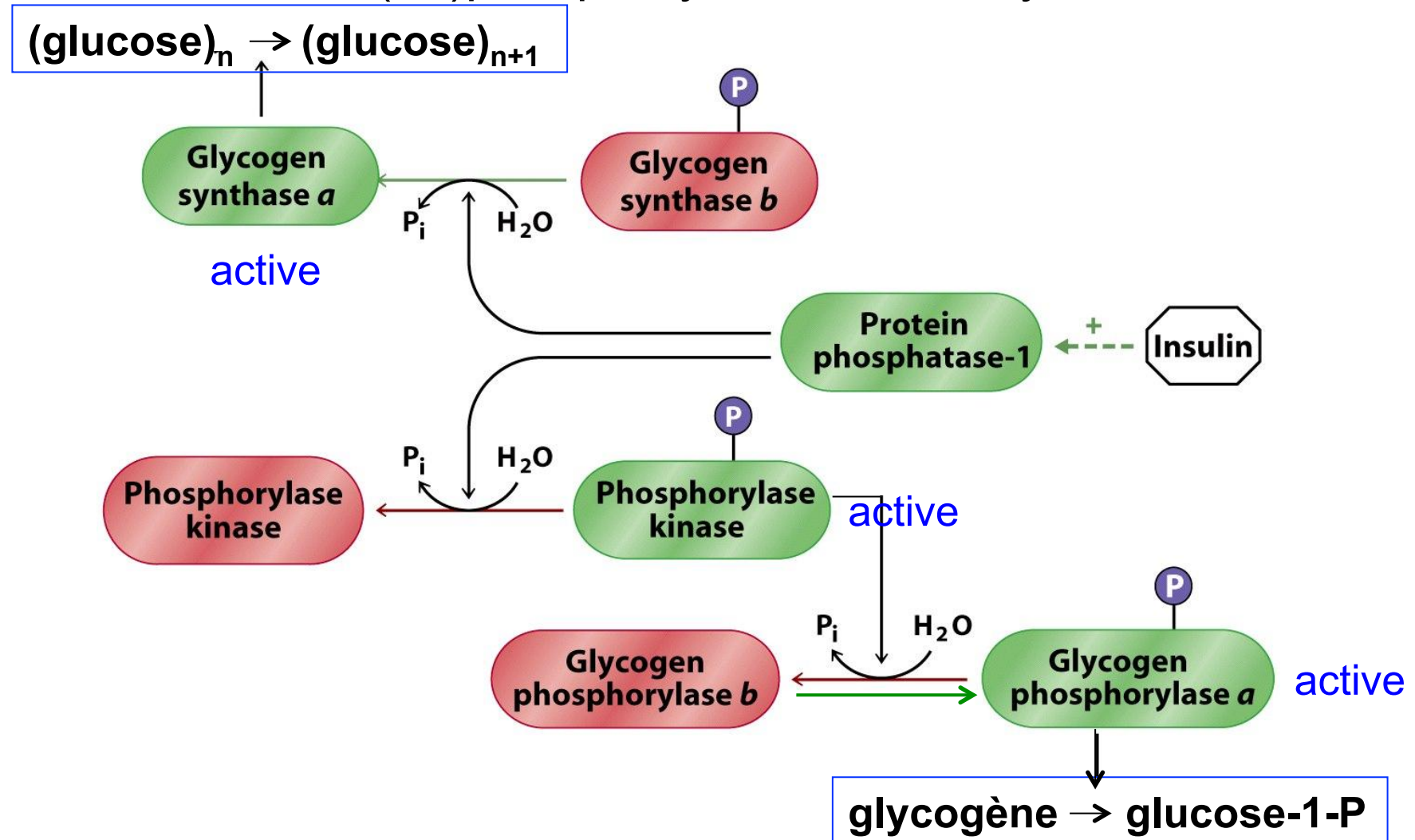
6. Mécanismes de régulation

Vitesse d'une réaction (limitante) dépendante de:

- la disponibilité en substrat \pm coenzyme
- la quantité d'enzyme (synthèse / dégradation)
- l'activité de l'enzyme:
 - activation par protéolyse limitée : zymogène \rightarrow E
 - activation par liaison d'une protéine de contrôle
 - activation par modification covalente (réversible):
Ex: 2 formes interconvertibles de E (active $\xleftarrow{\hspace{0.5cm}} \xrightarrow{\hspace{0.5cm}}$ inactive):
 - . forme phosphorylée (sur Ser, Thr ou Tyr) via protéine kinase
 - . forme déphosphorylée via protéine phosphatase

6. Mécanismes de régulation (suite)

Ex: régulation du métabolisme du glycogène par l'insuline via la (dé)phosphorylation des enzymes



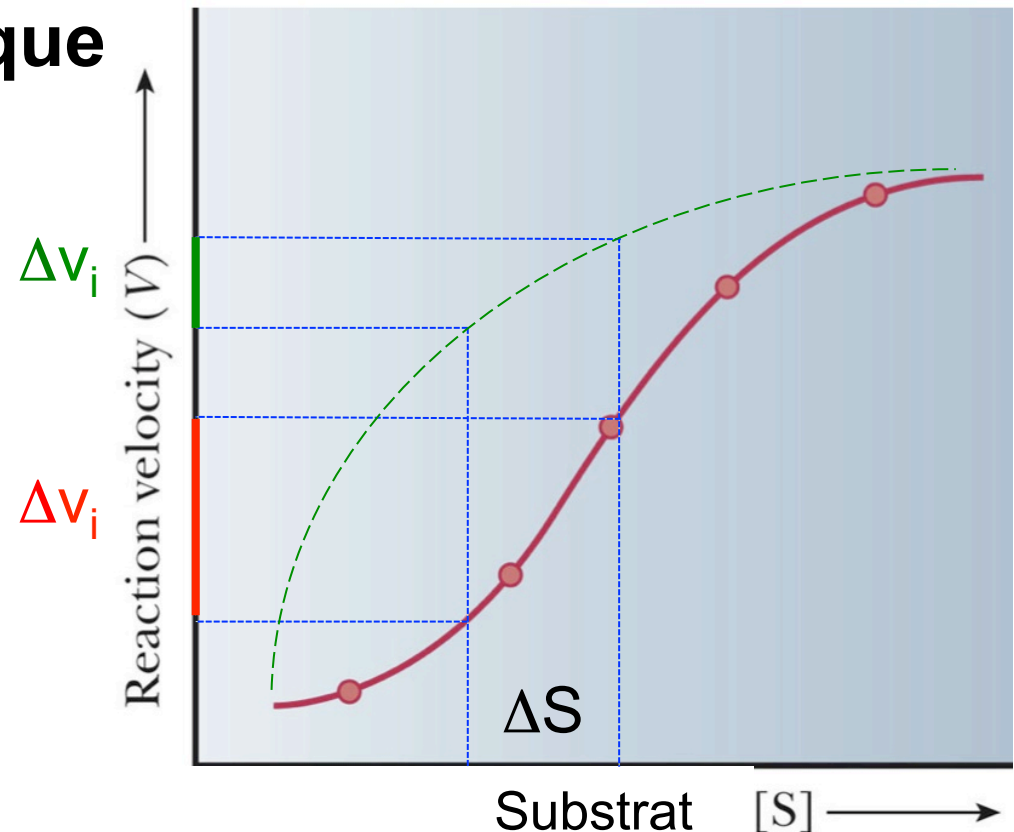
6. Mécanismes de régulation (suite)

Vitesse d'une réaction (limitante) dépendante de:

- l'activité de l'enzyme:
 - régulation par **allostérie** :

. Enzyme allostérique

- . se distingue d'une enzyme michaelienne par la courbe $v_i = f([S])$
- . possède une structure quaternaire (protéine oligomérique)
- . fonctionne de manière coopérative



6. Mécanismes de régulation (suite)

Vitesse d'une réaction (limitante) dépendante de:

- l'activité de l'enzyme:

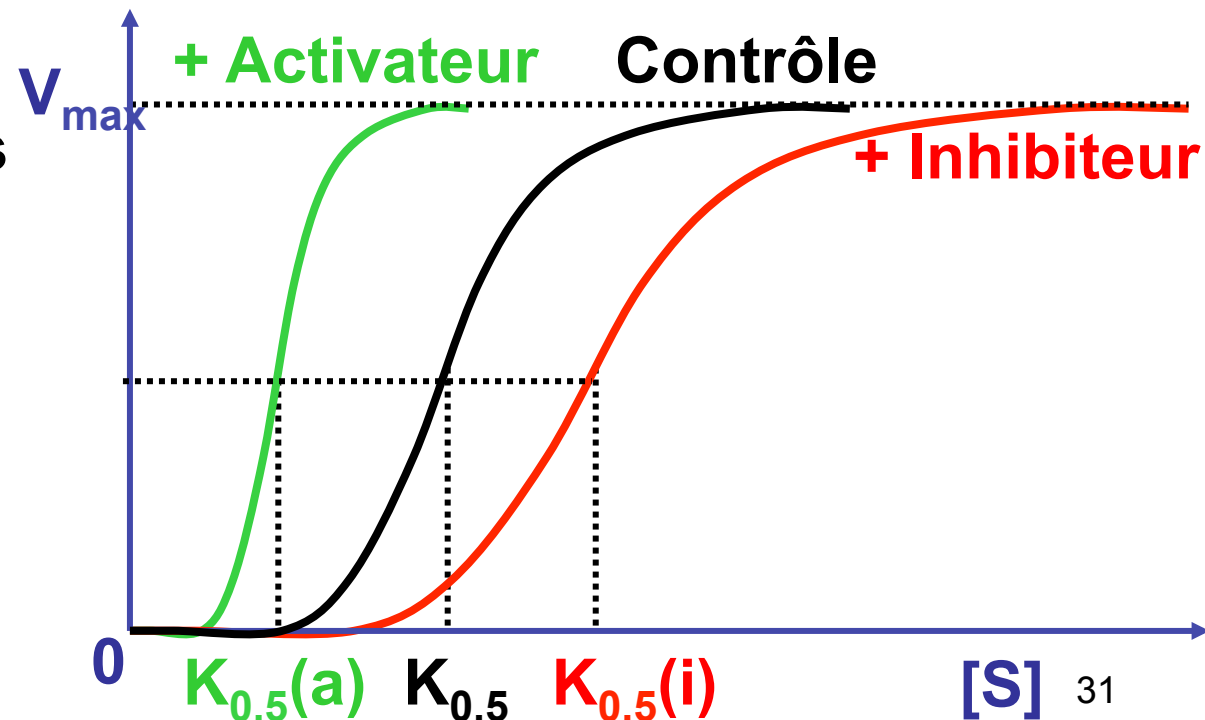
- régulation par **contrôle allostérique** :

- . **Effecteurs allostériques** activateurs ou inhibiteurs

- . se fixent sur **sites allostériques**

- . modifient la conformation du site actif

- . ↘ ou ↗ l'affinité de E pour S



7. Notions sur les Coenzymes

- Définition: **cofacteurs indispensables** à certaines enzymes (apoenzymes):
 - coenzymes libres ou **cosubstrats**
 - coenzymes liés ou **groupements prosthétiques**

apoenzyme + coenzyme = holoenzyme
- Propriétés:
 - pas de nature protéique
 - souvent hétérocycliques et hydrosolubles
 - retrouvent leur état initial après réaction
 - transfèrent une entité (électron, atome, molécule)
 - souvent, des vitamines ou dérivés

7. Coenzymes - Classification

• 7.1. Coenzymes d'oxydo-réduction

transfèrent des électrons ou des équivalents réducteurs

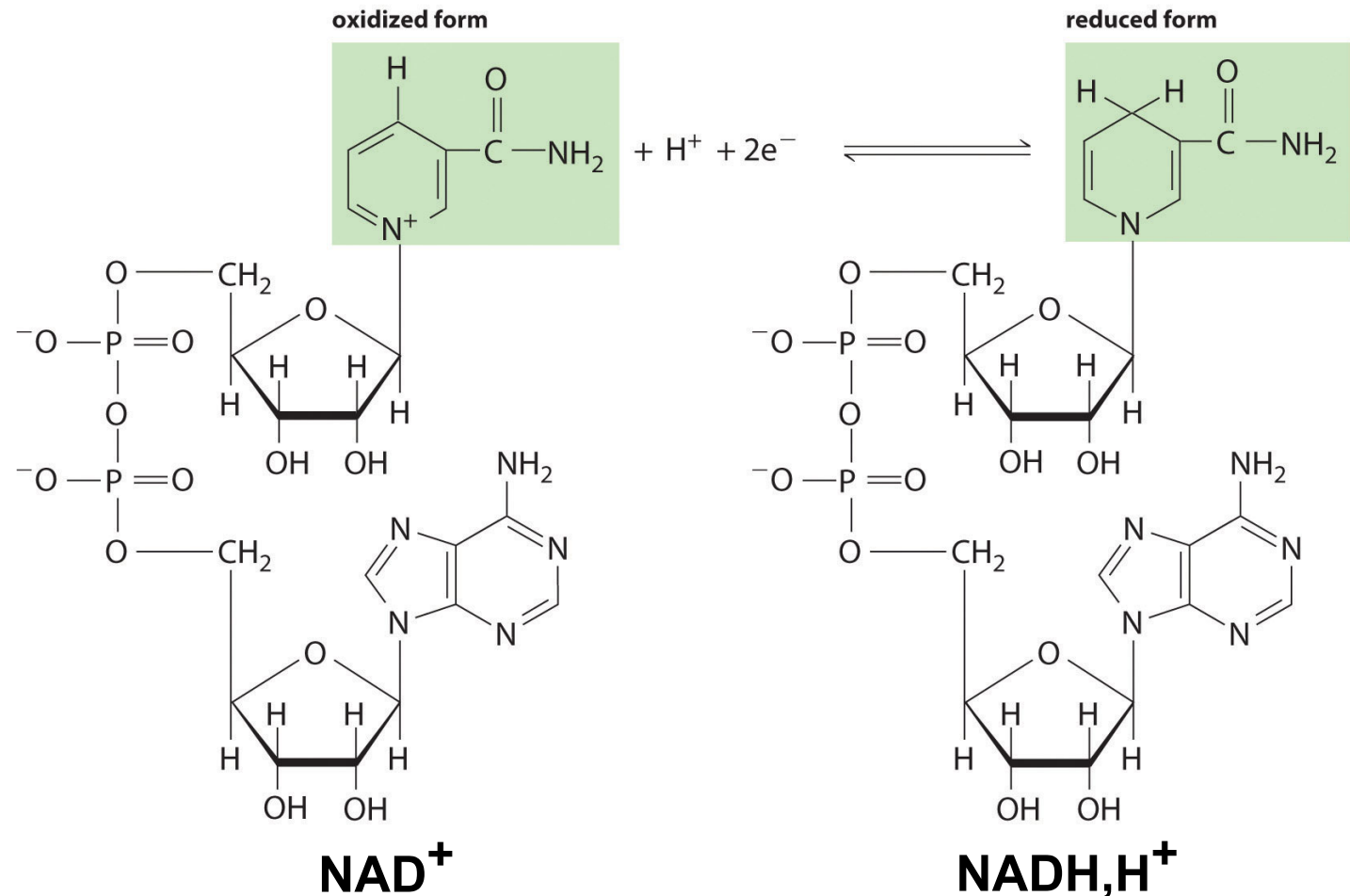
- coenzymes pyridiniques ou nicotiniques (vit B3 ou PP)
- coenzymes flaviniques (vit B2)
- acide lipoïque
- coenzymes quinoniques (CoQ)
- coenzymes héminiques
- protéines à centre Fer-Soufre

7. Coenzymes - Classification

• 7.1. Coenzymes d'oxydo-réduction

Ex: coenzymes pyridiniques ou nicotiniques :

Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD)



7. Coenzymes – Classification (suite)

• 7.2. Coenzymes de transfert de groupements d'atomes

- | | |
|--------------------------------------|---|
| - biotine (vit H) | CO_2 |
| - acide tétrahydrofolique (vit B9) | Groupements monocarbonés (CH_3, \dots) |
| - cobalamines (vit B12) | CH_3 |
| - coenzyme A (vit B5) | Groupements acyles |
| - pyrophosphate de thiamine (vit B1) | Décarboxylation |
| - phosphate de pyridoxal (vit B6) | Décarboxylation, transamination, ... |

7. Coenzymes – Classification (suite)

- 7.2. Coenzymes de transfert de groupements d'atomes

Ex: coenzyme A (CoA)

