

1. Définition :

Les enzymes (E) sont des catalyseurs biologiques qui permettent d'augmenter la vitesse d'une réaction chimique jusqu'à plusieurs milliards de fois. Ce sont principalement des protéines thermolabiles. Ces biocatalyseurs sont spécifiques ce qui élimine la formation de sous produits. La substance transformée est un substrat (S) et celle obtenue est un produit (P). L'E se retrouve intacte en fin de réaction comme tout les catalyseurs, elle peut être intra ou extra cellulaire.

2. Classification et Nomenclature :

2.1. Nomenclature et classification officielle :

La nomenclature officielle des E a été établie par la Commission des Enzymes (EC). Toutes les E actuellement connues sont répertoriées sous un numéro portant 4 nombres séparés par des points et précédé de EC soit EC X₁.X₂.X₃.X₄. la signification des nombres est la suivante :

"EC" désigne la commission des enzymes.

X₁ le premier nombre pouvant varier de 1 à 6 indique le type de réaction :

1: Les oxydoréductases, qui catalysent des transferts d'électrons, d'atomes d'hydrogène ou fixation d'oxygène lors des réactions d'oxydoréduction;

2: Les transférases, qui catalysent les transferts de groupements autres que ceux cités en 1;

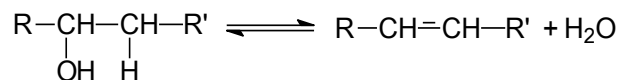
3: Les hydrolases, qui catalysent des réactions d'hydrolyse;

A-B + H₂O → A-OH + B-H avec fixation de H et OH provenant de l'eau

4: Les lyases, qui catalysent l'addition de groupes à des doubles liaisons ou l'inverse;

exemple : dans

est une



ce cas le groupement fixé
molécule d'eau

5: Les isomérases, qui catalysent le transfert de groupes dans une même molécule pour produire des formes isomères (la conversion d'un acide aminé L en acide aminé D' par exemple);

6: Les ligases, qui forment des liens C-C, C-S, C-O et C-N lors de réactions de condensation couplées à l'utilisation d'ATP.

X₂ désigne la sous classe de l'E qui définit son mode d'action

X₃ désigne la sous sous classe

X₄ désigne l'E étudiée

Ex.: chymotrypsine = EC 3.4.4.5, 3 (hydrolase) - 4 (hydrolyse de peptide) - 4 (protéase à sérine) - 5 (chymotrypsine)

2.2. Fonctionnelle :

Elle est très utilisée. Elle prend en compte le nom du S de l'E et le type de réaction catalysée. Pour désigner une E on indique : d'abord le nom du S puis le type de réaction catalysée, on ajoute enfin le suffixe ase. Ex. : lactate déshydrogénase (lactate ⇌ pyruvate)

Remarque : Des noms comme polymérase, phosphatase, kinase etc. sont cependant des noms familiers, ou usuels, et non des noms systématiques.

3. Structure et conformation des E:

Ce sont dans la majorité des cas de nature protéique donc structure I, II, III et IV. Si les SU sont identiques l'E est holopolymérique, et si les SU sont différents l'E est heteropolymérique

3.1.Isoenzymes : E catalysant la même réaction sur un même S mais ayant des structures protéiques différentes, ex : la lactate déshydrogénase possède 2 types de protomères, H (prédominant dans le cœur) et M (muscle), 5 combinaisons tétramériques sont possibles : M_4 , M_3H , M_2H_2 , MH_3 et H_4

3.2.Cofacteurs : Pour exercer leur activité catalytique, de nombreuses E requièrent des composantes chimiques supplémentaires appelées cofacteurs

3.2.1. Les ions métalliques : Fe^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} ou Mg^{2+} sont des cofacteurs fréquents.

3.2.2. Coenzyme vrai : molécule organique de petite taille, non protéique qui se lie au site actif, le plus souvent par des liaisons covalentes, comme la biotine ou le coenzyme A. La plupart des vitamines sont des cofacteurs enzymatiques.

La partie protéique de l'enzyme s'appelle *apoenzyme* et l'union de l'apoenzyme et de son coenzyme (ou de son cofacteur) est un *hétéroenzyme*.

Remarque : Le cofacteur, qu'il soit petit comme un ion ou complexe comme un coenzyme, peut être attaché de façon transitoire à l'apoenzyme ou encore y être fixé de façon covalente; c'est alors un *groupement prosthétique*.

Finalement, une E qui est synthétisée sous une forme inactive qui demande à être activée par protéolyse partielle est un zymogène.

3.2.3. Coenzymes mobiles ou cosubstrat : cofacteur qui se fixe réversiblement au site actif de l'E tel que NAD, NADP et FAD. Ils permettent le transfert d'hydrogène et d' e^- d'un S qui sera oxydé vers un autre qui sera réduit.

3.3. Structure des enzymes et Site actif : l'E comporte 2 parties :

3.3.1. Le site actif : petite partie intervenant dans la formation des complexes ES nécessaires à la catalyse. La forme du site actif de l'E va lui permettre de reconnaître un S particulier : **le S est la clé dont le site actif est la serrure (modèle de Fischer)**. Certaines E sont extrêmement spécifiques et ne fonctionneront que sur un seul et unique S; d'autres ont un large spectre et fonctionnent sur une structure partagée par de nombreuses molécules qui peuvent toutes lui servir de S.

Le site actif consiste d'au moins deux parties fonctionnelles, qui peuvent ou non être voisines sur la chaîne polypeptidique (si non, la structure tertiaire les amène près l'une de l'autre). Ce sont :

✓ Le site de reconnaissance du substrat : permet à l'enzyme de reconnaître son substrat

✓ Le site catalytique : lui faire subir son traitement catalytique.

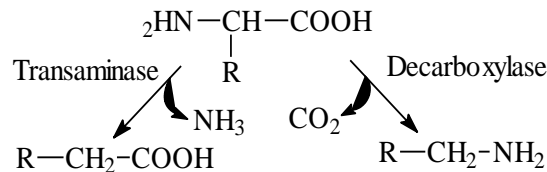
La liaison du substrat implique souvent de nombreuses liaisons non-covalentes de type hydrophobique, des ponts hydrogènes, ou des interactions de van der Waals.

3.3.2. Le reste de la molécule : dont le rôle est :

✓ Maintien de la conformation tridimensionnelle active de l'E

✓ un S peut subir plusieurs transformations possibles, chacune catalysée par une E spécifique, toutes ces E reconnaissent le même S, mais les P obtenus sont ≠

Exemple :



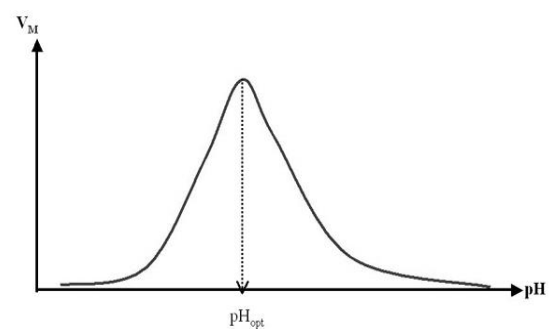
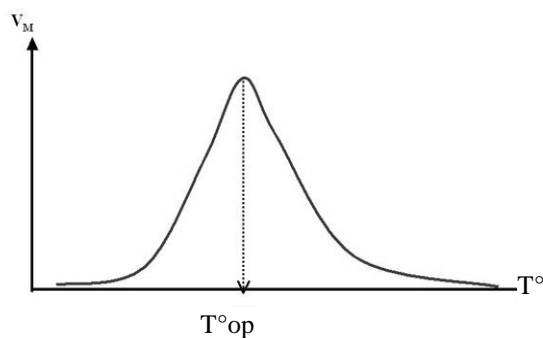
4.5.2. Spécificité liée au substrat : Une E reconnaît spécifiquement un S avec lequel elle va former un complexe ES.

Ex : La L Transaminase n'utilisera que la L Ala dans un mélange L Ala + D Ala

4.6. Les E agissent en quantité très faible et sont retrouvées intactes à la fin de la réaction

5. Facteurs agissants sur l'activité enzymatique :

5.1. Température : Quand la température augmente, la vitesse de réaction augmente (apport d'énergie). En même temps, il se produit une inactivation (dénaturation) progressive de la protéine enzymatique, de telle sorte qu'il existe une température optimale apparente. Généralement, la dénaturation est négligeable en dessous de 30°C et commence à être appréciable au-delà de 40°C. Quelques enzymes gardent une activité importante à des températures bien supérieures à 40°C, par exemple les enzymes des bactéries thermophiles. Cette propriété a des applications pratiques importantes.



Température optimum : T° pour laquelle l'E a son activité maximale (varie selon les individus et l'espèce).

5.2. pH: pH optimum : pH pour laquelle l'E a son activité maximale, il permet l'ionisation de certains groupements de l'E en particulier ceux du SA, l'ionisation éventuelle du S, et/ou du coE, ce qui permet l'établissement d'interaction entre eux nécessaires à la transformation du S en P.

5.3. Autres : d'autres facteurs peuvent également modifier ou inactiver les E tq : fortes pressions, irradiation aux UV ou aux RX, les détergents etc.

6. Unités d'activités enzymatiques :

6.1. Activité molaire : nombre de molécule de S transformé en 1mn/1molécule d'E dans les conditions optimale

6.2. unité internationale : quantité d'E qui transforme 1μmole S/mn dans un volume réactionnel de 1 ml

6.3. activité spécifique : nombre d'UI/mg prot ou d'E, elle est exprimée en katal/kg de prot ou μkatal/mg de prot

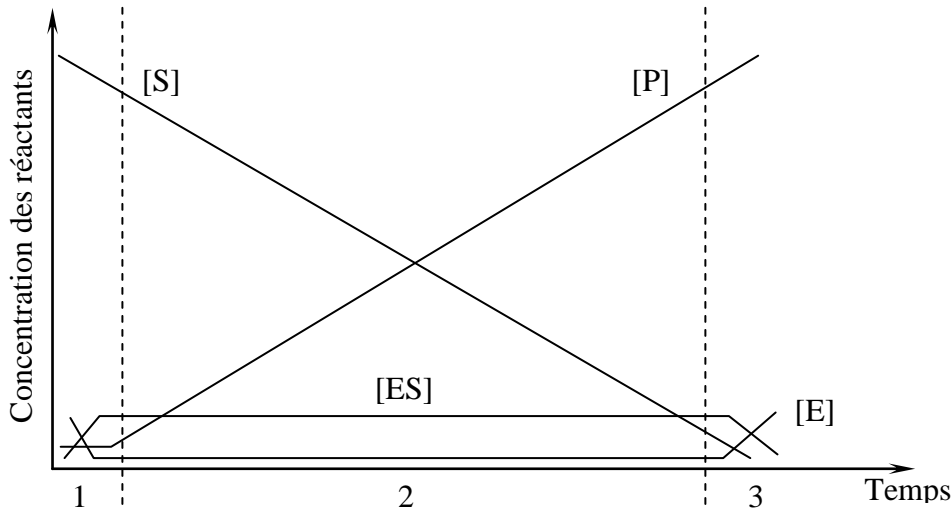
6.4. katal : (kat) quantité d'E transformant 1 mole de S/sec

$$1\text{UI} = \frac{1}{60} \mu\text{katal} = 16.67\text{nkatal}$$

Cinétique Enzymatique

1. La réaction enzymatique :

1.1. Modèle de Michaelis-Menten :



Phase 1 : Préstationnaire

[S] ↗↗↗
[P] peu ou pas

Phase 2 : Stationnaire

[ES] cte
[S] ↓ [P] ↑

Phase 3 : Post stationnaire

[S] ↓ ⇒ = 0
[P] max

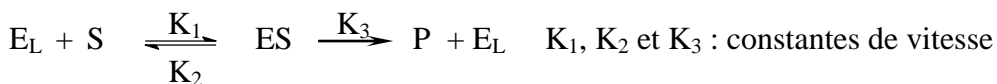
➤ Phase pré stationnaire : dure quelques secondes, durant cette phase le S est rapidement complexé en ES

➤ Phase stationnaire : toute l'E est sous forme ES, $[E_L] = [ES]$ (E est saturée), la vitesse de la réaction atteint la valeur maximum

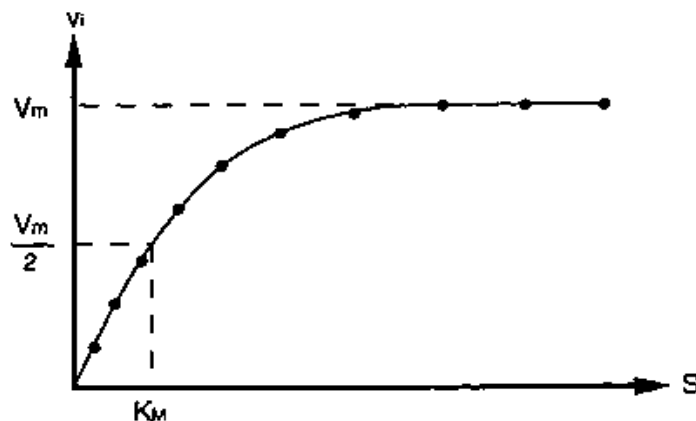
La vitesse de la réaction correspond à la quantité de S transformé en P par unité de temps.

Vitesse initiale : $V_i = \frac{dP}{dt} = -\frac{dS}{dt} = \text{cste}$ (quantité de S disparue/unité de temps, quantité de P apparu/unité de temps)

Détermination de la constante de Michaelis K_M



$$V_i = f([S])$$



Les E michaeliennes sont des E à un seul S transformé en un P

$$V_1 = K_1 [E] [S] \quad -\frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt}$$

⇒ V disparition S = V apparition P

$$V_2 = K_2 [ES]$$

$$V_3 = K_3 [ES] \Rightarrow V_1 - V_2 = V_3$$

$$\Rightarrow K_1 [E] [S] - K_2 [ES] = K_3 [ES]$$

$$\Rightarrow K_1 [E] [S] = [ES] (K_2 + K_3)$$

$$\Rightarrow \boxed{\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{K_2 + K_3}{K_1} = K_m = \text{constante de Michaelis (cte de dissociation ES)}}$$

$$K_m \nearrow \Rightarrow \text{faible affinité pour le S} \quad K_m = \frac{1}{K_{\text{aff}}}$$

Equation de Michaelis

$$[E_L] = [E_T] - [ES] \quad V_i = K_3 [ES] \Rightarrow [ES] = \frac{V_i}{K_3}$$

$$\text{Si } [ES] = [E_T] \Rightarrow V_{\text{max}} = K_3 [E_T] \Rightarrow [E_T] = \frac{V_{\text{max}}}{K_3}$$

$$K_m = \frac{[E][S]}{[ES]} \Rightarrow K_m = \frac{([E_T] - [ES])[S]}{[ES]} \Rightarrow K_m = \frac{[E_T]}{[ES]} [S] - [S] \Rightarrow$$

$$K_m = \frac{[E_T]}{[ES]} [S] - [S] \Rightarrow K_m = \frac{V_{\text{max}}}{V_i} [S] - [S] \Rightarrow K_m + [S] = \frac{V_{\text{max}}}{V_i} [S]$$

$$\Rightarrow \boxed{V_i = \frac{V_{\text{max}} \times [S]}{K_m + [S]} \quad \text{Equation de Michaelis}}$$

1.2. Linéarisation de l'équation de Michaelis :

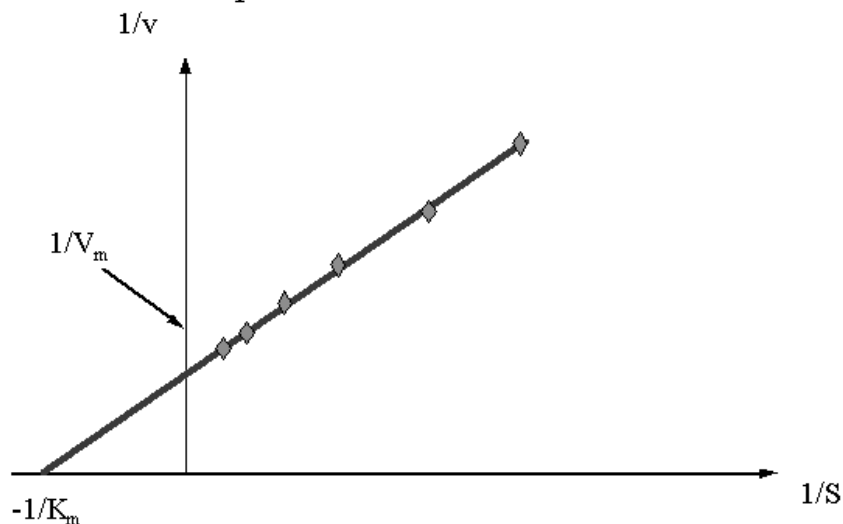
1.2.1. Méthode de Lineweaver-Burk :

$$\text{Inversion de l'équation de Michaelis } \frac{1}{V_i} = f\left(\frac{1}{S}\right) \Rightarrow \frac{1}{V_i} = \frac{K_m + [S]}{V_m \times [S]} = \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m} \Rightarrow$$

$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m} \quad \text{pente a: } \frac{K_m}{V_m} \quad \text{abscisse à l'origine } y = 0 \Rightarrow x = -\frac{1}{K_m}$$

$$Y = a X + b \quad \text{Ordonné à l'origine } x = 0 \Rightarrow y = \frac{1}{V_m}$$

Représentation de Lineweaver Burk



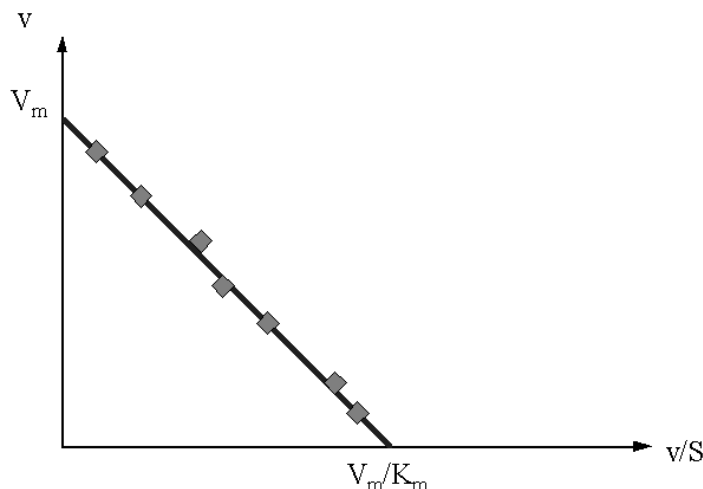
1.2.2. Méthode de Eadie Hofstee :

$$V_i = f\left(\frac{V_i}{[S]}\right) \Rightarrow V_i = \frac{V_m \times [S]}{K_m + [S]} \Rightarrow V_i(K_m + [S]) = V_m[S] \Rightarrow V_i K_m + V_i[S] = V_m[S]$$

$$\Rightarrow \frac{V_i}{[S]} K_m + V_i = V_m \Rightarrow V_i = V_m - \frac{K_i}{[S]} K_m \text{ équation d'Eadie}$$

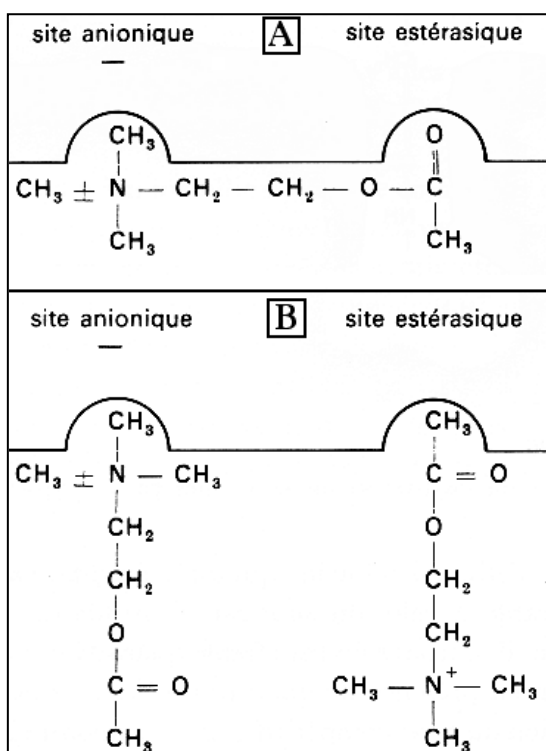
$$Y = b - a \times x$$

Représentation de Eadie-Hofstee

**2. Anomalie de la cinétique enzymatique :****2.1. inhibition par excès de substrat : ex de l'acétylcholinestérase****2.1.1. Association de l'acétylcholine à l'acétylcholinestérase :**

Il existe deux sous - sites de fixation de l'acétylcholine, distants de 7 Å :

- Le sous - site anionique qui porte une charge négative et qui interagit avec la charge positive portée par l'ammonium quaternaire du substrat ;
- Le sous - site estérasique (contenant les résidus catalytiques sérine et histidine) et qui interagit avec la liaison ester du substrat.

**2.1.2. Inhibition par excès de substrat (l'acétylcholine) :**

- Quand la concentration du substrat est faible, chaque partie du substrat interagit avec le sous-site qui lui est dédié.
- Quand la concentration du substrat est forte, une molécule de substrat n'interagit plus que partiellement avec l'un ou l'autre des sous - sites, chaque sous - site étant cependant occupé par une molécule de substrat.

2.2. Autocatalyse :

Une réaction peut activer à son tour la réaction d'un P dans ce cas l'E présente une activité proportionnelle à S et à P en même temps.

3. Influence de différents paramètres sur la V_i :

3.1. Température : T° optimum

3.2. pH : pH optimum

3.3. Agents chimiques :

3.3.1. Activateurs :

- ✓ Ions métalliques Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} sont indispensables à l'activité de certaines E
- ✓ Activation par élimination de résidu comme pour les zymogènes
- ✓ Activation par fixation de groupements chimique

3.3.2. Inhibiteurs :

- ✓ Irréversibles comme les métaux lourds, dénaturent les prot de façon irréversible
- ✓ Réversibles : provoquent une modification de l'activité enzymatique de façon réversible

4. Différents types d'inhibition : voir tableau

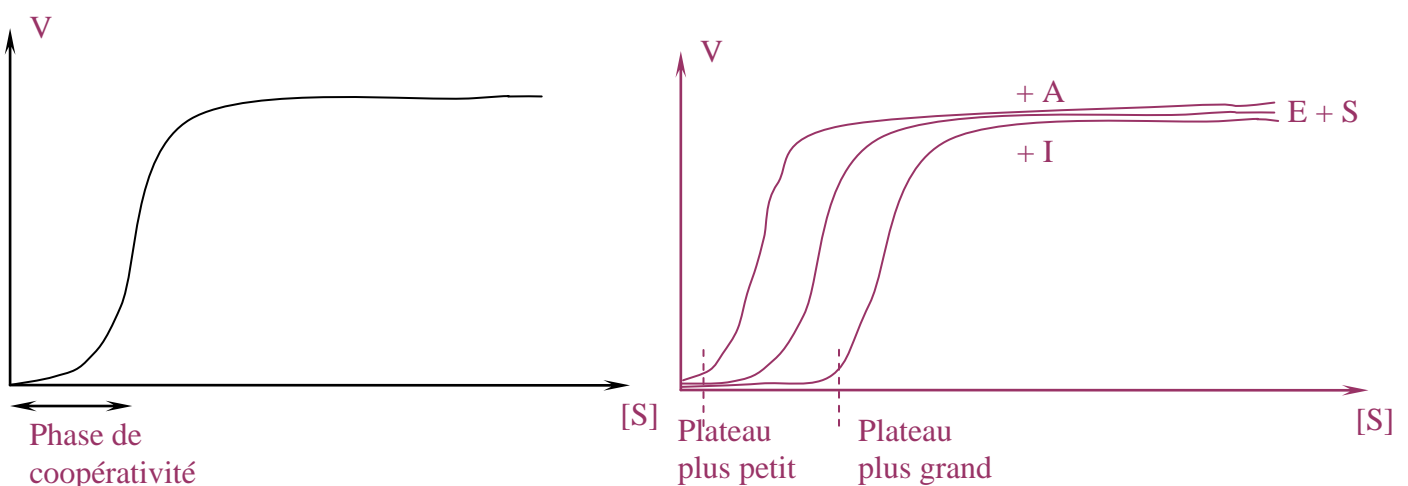
4.1. Inhibiteur compétitif (IC) : l'I est un analogue structural du S, il entre en compétition avec lui pour se fixer à sa place au SA

4.2. Inhibiteur non compétitif (INC) : l'I est différent du S, l'E présente 2 sites de fixation différents, l'un pour le S et l'autre pour l'I, la fixation de l'I sur l'E n'interfère pas avec celle du S

4.3. inhibiteur incompétitif ou anticompetitif (IAC) : l'I ne se fixe que sur le complexe ES, la fixation de S sur E favorise la fixation de I

5. Allostérie :

Contrôle à distance d'un site catalytique (inhibition ou activation) d'une enzyme par modification de sa structure entraînée par la fixation d'une petite molécule appelée "effecteur". On peut avoir rétro inhibition ou rétro activation



Cinétique des E allostériques

Action des effecteurs sur la cinétique d'une E allostérique