

Généralités sur les enzymes

Introduction: Presque toutes les réactions chimiques qui ont lieu dans les systèmes biologiques sont catalysées par des enzymes qui constituent la classe de protéines à la fois la plus vaste et la plus spécialisée. Elles représentent l'instrument primaire direct de l'expression de l'action du gène puisqu'elles catalysent les milliers de réactions chimiques qui constituent le métabolisme intermédiaire des cellules.

I-Définitions :

Les enzymes sont les **catalyseurs biologiques des réactions biochimiques, très hautement spécifiques**

— **catalyseurs:** elles **augmentent** les vitesses de réaction, sans modifier la constante d'équilibre en diminuant l'énergie libre d'activation, **elles se retrouvent intactes** à la fin de la réaction.

— **biologiques:** elles sont produites par la cellule : toutes les enzymes sont **des protéines** (exception : les ribozymes sont des ARN doués d'activité catalytique)

-- **spécifiques :** elles transforment un substrat donné (spécificité de substrat) grâce à une réaction donnée (spécificité d'action)

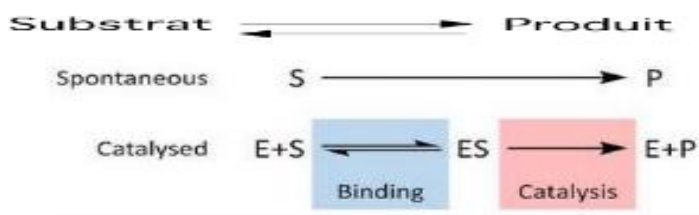
elles sont **régulables** : certaines enzymes modifient leur activité catalytique en réponse à des signaux métaboliques, ce qui permet l'ajustement de l'offre métabolique à la demande cellulaire.

II-Généralités-Définitions :

1/ Substrat : Molécule qui entre dans une réaction pour y être transformée grâce à l'action catalytique d'une enzyme.

2/ Produit : Molécule qui apparaît au cours d'une réaction catalysée par une enzyme suite à la transformation de substrat.

3/ la réaction enzymatique :



4/ Le coenzyme : Molécule biologique intervenant comme cofacteur indispensable dans la catalyse enzymatique d'une réaction, il est soit synthétisé par l'organisme (molécule organique) ou apporté par l'alimentation (vitamine). Il peut être :

* Libre : - se dissocie de l'enzyme à la fin de chaque réaction.

* Lié : - ne se dissocie pas de l'enzyme.

- il est lié à l'enzyme par des liaisons fortes (type covalent).

- sa concentration est la même que celle de l'enzyme (faible).

- il est dit groupement prosthétique.

5/ Apoenzyme/holoenzyme : L'apoenzyme est la partie protéique d'une enzyme ;

L'holoenzyme désigne l'enzyme catalytiquement active complète, avec son cofacteur (coenzyme ou ions métalliques).

III-Caractéristiques des enzymes :

1/ La spécificité :

Une enzyme donnée est spécifique d'une réaction, elle catalyse la même transformation, se produisant sur les mêmes corps chimiques, c'est la double spécificité :

* **Spécificité d'action :** l'enzyme ne catalyse, pour un substrat donné, qu'un seul type de réaction.

* **Spécificité de substrat :** l'enzyme n'agit que sur un substrat ou type de substrats

2/ Efficacité : Les enzymes sont plus efficaces que les catalyseurs chimiques.

Au niveau du site actif, la catalyse est due à :

- L'augmentation locale des molécules de réactants ;

- Une orientation adéquate des molécules ;

- Diminution de l'énergie libre d'activation de la réaction $\Delta G^\#$.

3/ Thermolabilité : Les enzymes sont des protéines, elles se dénaturent sous l'effet de la chaleur.

4/ Régulable : Certaines enzymes modifient leur activité catalytique en fonction du besoin cellulaire.

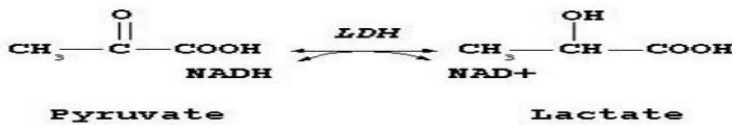
5/ Variété moléculaire : Isoenzymes

Les isoenzymes sont les formes multiples d'enzymes, avec structure protéique différente et affinité différente: elles catalysent la même réaction avec le même substrat, et ont une répartition différente dans l'organisme, ex : LDH

Exemple :

LDH: Lactate déshydrogénase

Enzyme cytoplasmique présente dans de nombreux tissus



Structure:

Tétramérique, pouvant être formé par l'association de 2 chaînes peptidiques

- M : Muscle
- H : Cœur

5 iso-enzymes:

- LDH1 (H4)
- LDH2 (H3M1)
- LDH3 (H2M2)
- LDH4 (H1M3)
- LDH5 (M4)

Rôle : La mesure de l'activité d'une iso-enzyme renseigne sur l'état du tissu dont elle est spécifique

Les tissus	Les isoenzymes prédominants
Myocarde, érythrocytes, rein	LDH1, LDH2
Foie, muscle squelettique.	LDH4, LDH5
Glandes endocrines, rate, poumon, ganglions lymphatiques...	LDH2, LDH3, LDH4

Rôles des isoenzymes :

- La différence d'affinité permet la régulation de l'activité de l'enzyme en fonction du tissu.
- L'activité de l'isoenzyme donne une idée sur l'état de tissu auquel elle appartient.

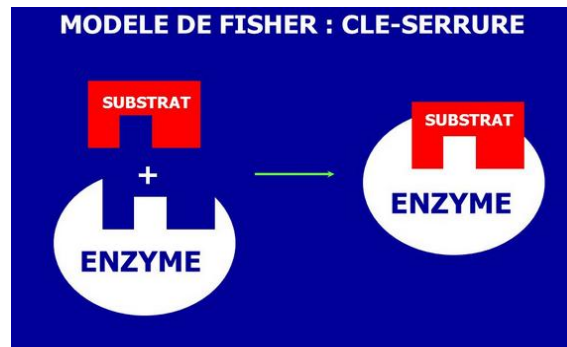
La Notion de complexe Enzyme-Substrat :

Structure du site actif des enzymes: *Le site (ou centre) actif* d'une enzyme est la région où se fixe(nt) le(s) substrat(s) et (le cas échéant) le coenzyme, et où a lieu la réaction.

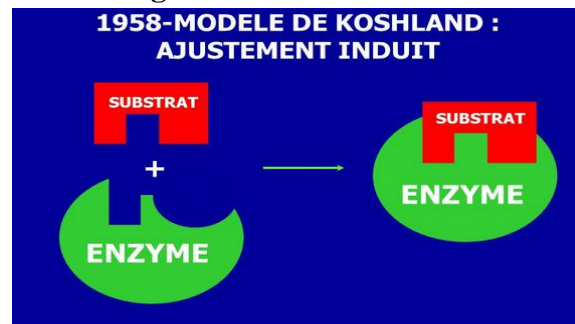
Le site actif joue un double rôle : celui de **site de fixation du substrat** et celui de **site catalytique**.

Le site actif est localisé au fond d'une poche de la zone interne hydrophobe de la protéine. Les liaisons entre enzyme (au niveau des chaînes latérales, le plus souvent polaires, des quelques acides aminés constitutifs du site actif) et substrat(s) ne sont pas de nature covalente, même si transitoirement de telles liaisons peuvent se former au cours de la catalyse. La spécificité de l'enzyme pour son substrat est l'une des caractéristiques de la catalyse enzymatique.

*En 1890, **E. Fischer** proposait le **modèle de la clé et de la serrure** : la forme du substrat (la clé) est complémentaire de celle du site actif de l'enzyme (la serrure).



*Or une molécule d'enzyme n'est pas rigide, mais flexible. **D. Koshland** (1958) a proposé **le modèle de l'ajustement induit** comme la main et le gant.



IV-la classification des enzymes: Chaque enzyme possède un nom spécial. Certaines enzymes prennent le nom de son substrat + suffixe « **ase** », exp :Lactase,Lipase...autres enzymes prennent des noms qui n'ont aucune relation avec leurs Substrats.exp trypsine.

Les enzymes sont classées en **6 classes**, chacune renferme des sous classes et des sous sous classes.

- 1- **Les Oxydoréductases**: catalysent le transfert d'électrons (ex: alcool DH).
- 2- **Les transférases**: catalysent le transfert de groupements fonctionnels (ex: hexokinase).
- 3- **Les hydrolases**: catalysent les réactions d'hydrolyses (ex: trypsine).
- 4- **Les lyases** (ou synthases): catalysent les clivages de C-C, C-O, C-N et d'autres liaisons formant souvent une double liaison (ex: pyruvate décarboxylase). Permet aussi la formation de doubles liaisons.
- 5- **Les isomérases**: catalysent le transfert de groupes à l'intérieur d'une molécule (ex: maléate isomérase).
- 6- **Les ligases** (ou synthétases): catalysent les réactions de ligases couplée à l'hydrolyse de l'ATP (ex: pyruvate carboxylase).

Chaque enzyme est codée par une séquence de chiffres.

Exemple d'enzyme : Glucokinase « GK » : numéro de code EC. 2.7.1.2

- 2 : transférase ;
- 7 : le groupement transféré est un phosphore ;
- 1 : l'accepteur est un groupement alcool (du glucose) ;
- 2 : le numéro d'ordre de la GK.

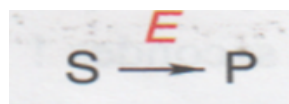
Le nom systématique : l'ATP, D-glucose 6-phosphotransférase.

Le nom commun : la glucokinase.

V-la cinétique enzymatique:

La vitesse initiale de réaction:

- Soit la réaction catalysée par l'enzyme E qui transforme le substrat S en produit P:



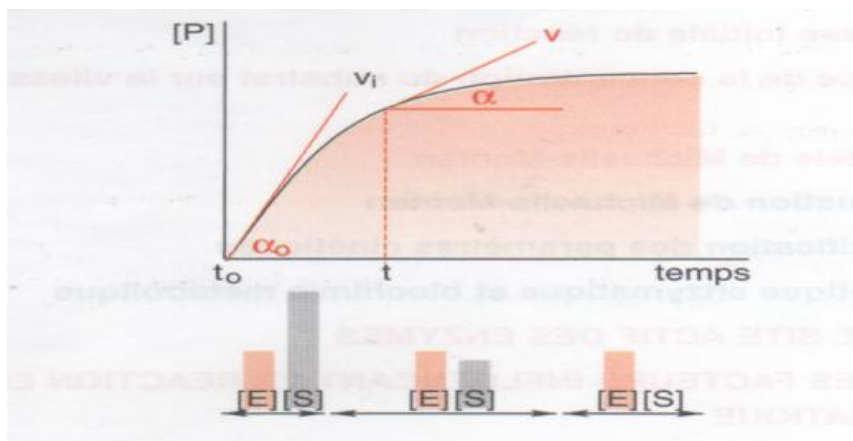
La vitesse instantanée de réaction est la quantité de S disparue par unité de temps ou la quantité de P apparue par unité de temps elle est proportionnelle à la concentration du substrat

$$v = -\frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt} = k [S]$$

Le signe moins dans $-\frac{dS}{dt}$ traduit le fait que la concentration de S diminue alors que celle de P augmente.)

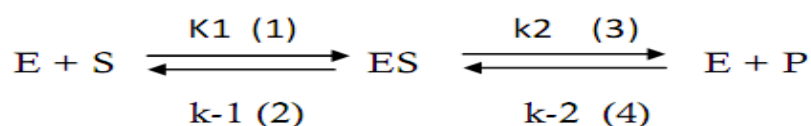
• Pour des concentrations de E et de S données, on mesure la quantité de P formé en fonction du temps:
La courbe $[P] = f(t)$ est:

- d'abord linéaire ascendante : l'enzyme est saturée par son substrat, la vitesse est constante
- puis s'infléchit: l'enzyme n'est plus saturée par son substrat, la vitesse décroît
- et enfin devient horizontale : l'équilibre de la réaction est atteint et la vitesse est nulle.
- A l'instant t_0 , c'est la vitesse initiale v_i de la réaction



Le modèle de Michaelis-Menten:

- La réaction globale comporte deux réactions élémentaires, d'abord la formation d'un complexe entre le substrat et l'enzyme, qui ensuite se décompose pour donner les produits et l'enzyme :



- E, S, ES, et P symbolisent respectivement l'enzyme, le substrat, le complexe enzyme-substrat, et les produits
- D'après ce modèle, quand la concentration en substrat est suffisamment grande pour que toute l'enzyme se trouve sous forme ES, la deuxième étape de la réaction devient limitante et la vitesse de la réaction globale est insensible à des augmentations supplémentaires de la concentration en substrat.
- On définit dans ce modèle la constante de Michaelis qui est égale à:

$$\frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1} = K_m$$

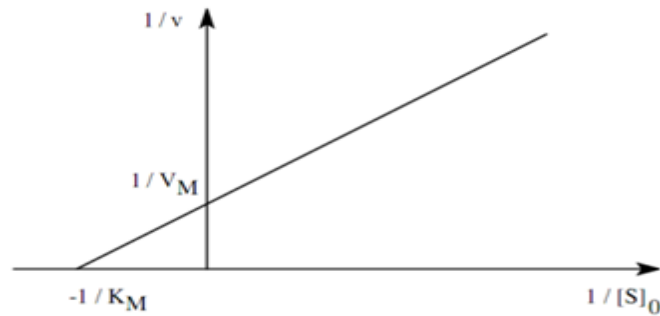
La vitesse maximum d'une réaction, v_m , est obtenue pour de fortes concentrations en substrat, lorsque l'enzyme est saturée, c'est-à-dire, quand elle se trouve entièrement sous la forme ES :

$$v_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_M + [S]}$$

Représentation de Lineweaver et Burk :

Traditionnellement les estimées des valeurs cinétiques v , V_{\max} et K_M ont été obtenues à partir d'une méthode proposée par Lineweaver et Burk et connue sous ce nom. Une courbe de v en fonction de $[S]$ permet de définir les valeurs de K_M et V_{\max} , directement en utilisant l'équation réciproque

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_M} \left(\frac{1}{[S]_0} \right) + \frac{1}{V_M}$$



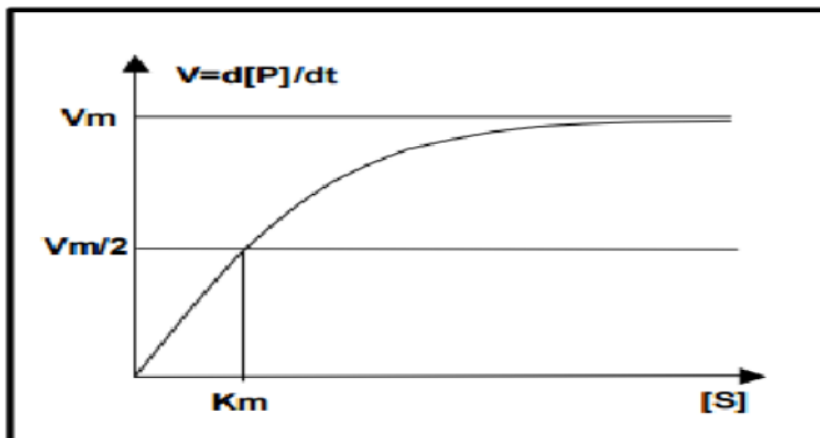
Signification des valeurs de K_m et V_{\max} :

Signification des paramètres cinétiques (pour une réaction à un substrat)

— **La V_{\max}** : est la vitesse de la réaction lorsque l'enzyme est "à saturation", lorsque toutes les molécules de l'enzyme sont complexées au substrat.

— **La K_m** : constante de Michaelis, constante de dissociation du complexe enzyme- substrat.

- Concentration initiale de substrat pour laquelle $V = 1/2 V_{\max}$, donc la moitié des sites actifs de l'enzyme est occupée par le substrat
- L'affinité de l'enzyme pour le substrat : K_m est d'autant plus élevée que l'affinité de l'enzyme pour le substrat est plus faible (K_m est inversement proportionnelle à l'affinité).



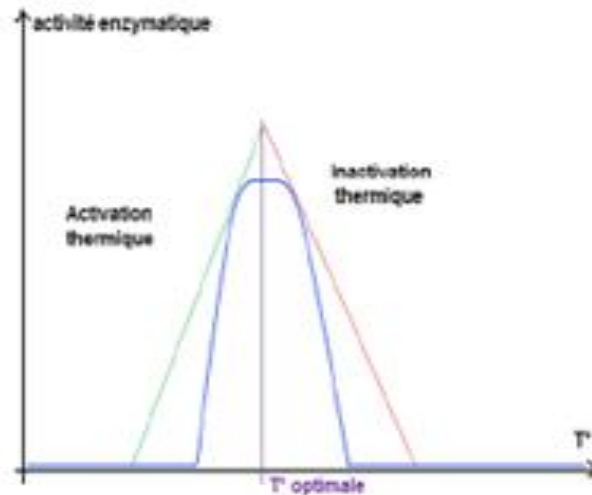
hyperbole de Michaelis

VI-l'influence des différents paramètres sur la vitesse initiale:

1-influence de la température:

Action de la température

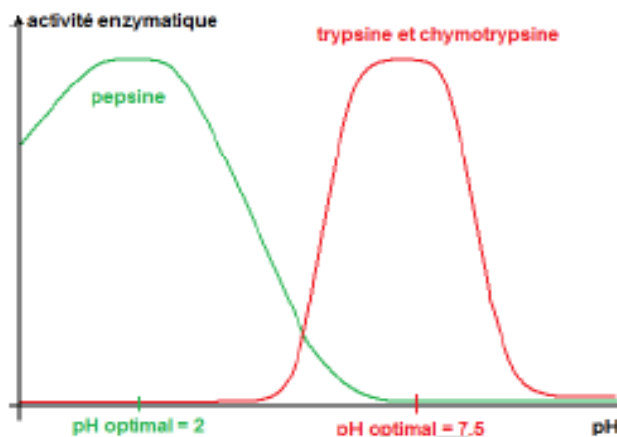
- Inactivation thermique : dénaturation thermique des macromolécules
 - Perte de la structure 3D
 - Casse les liaisons hydrogènes
 - Casse les liaisons hydrophobes
 - Casse les liaisons de Van der Waals



2-influence du pH:

Action du pH sur l'activité enzymatique

- Enzymes impliquées dans la digestion qui diffèrent par leur lieu d'action dans le tube digestif
- Pepsine : estomac (pH très acide = 2)
- Puis dans le duodénum, action de 2 canaux
 - Un du foie qui amène la bile et neutralise le bol alimentaire (pH = 7)
 - Un du pancréas qui amène trypsine et chymotrypsine, quand le milieu est neutre



3-influence de la concentration en enzymes.

4- Les activateurs:

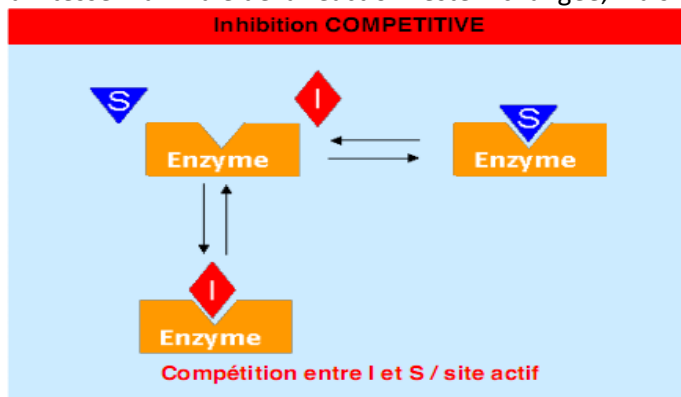
Les activateurs augmentent la vitesse d'une réaction enzymatique

- Cofacteurs inorganiques : ions métalliques
- Cofacteurs organiques (coenzymes)

5-l' inhibition :

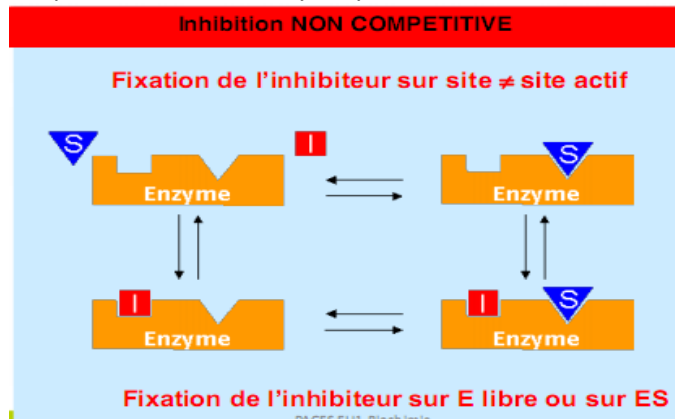
a- **Compétitive** (L'inhibiteur aura le même site de fixation que le substrat)

la vitesse maximale de la réaction reste inchangée, mais l'affinité de l'enzyme pour le substrat diminue

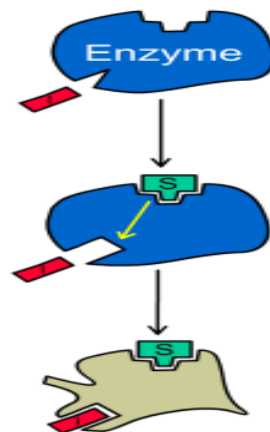


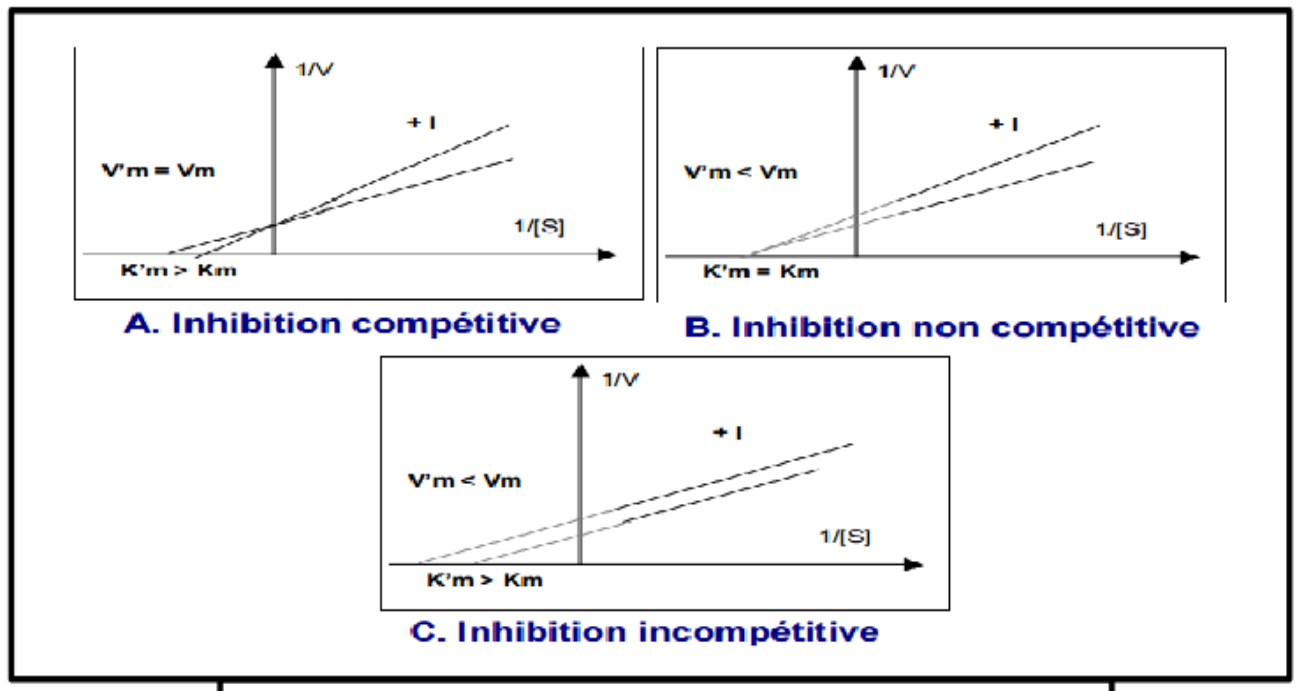
b- Non compétitive (Dans ce cas, le substrat se lie à son site et l'inhibiteur non compétitif va sur un autre site)

La fixation d'un inhibiteur non compétitif diminue la vitesse maximale de la réaction, mais ne modifie pas l'affinité de l'enzyme pour le substrat,



c- Incompétitive : K_m et V_m changent. Un [inhibiteur incompétitif](#) ne se fixe jamais à l'enzyme libre mais seulement à l'enzyme complexée avec le substrat ES et empêche la formation des produits. Généralement, la liaison du substrat sur l'enzyme entraîne une modification de la conformation de l'enzyme par [ajustement induit](#), révélant ainsi un site de fixation pour l'inhibiteur. L'inhibiteur, en retour, modifie la conformation du site actif de l'enzyme, et empêche la réaction.





VII- Les enzymes allostériques :

Certaines enzymes montrent une cinétique différente du modèle de Michaelis. Il s'agit des enzymes allostériques. Leur cinétique ne présente pas l'allure d'une hyperbole mais d'une **sigmoïde**.

Elles possèdent une structure quaternaire avec plusieurs protomères (sous unités de base)

associés entre eux par des liaisons faibles et sont donc oligomériques. Chaque protomère possède un site actif pouvant fixer au moins deux molécules :

- Le substrat
- L'effecteur allostérique (activateur ou inhibiteur)

Une enzyme allostérique possède donc plusieurs sites actifs constitués chacun d'un site catalytique pour le substrat et un site régulateur pour l'effecteur allostérique. Les enzymes allostériques (allo = autre stérie = forme) existent sous deux formes :

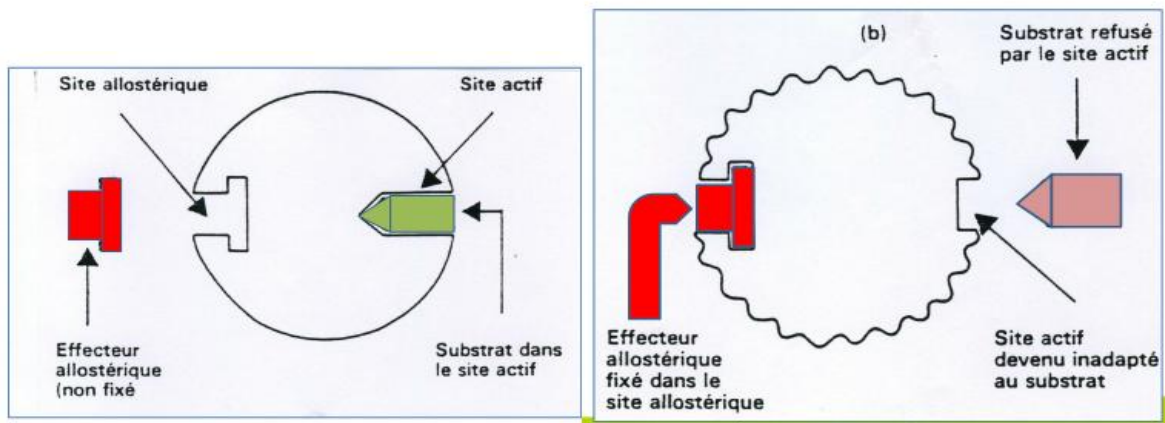
- Une forme dite **tendue** notée **T** inactive ou chaque protomère montre **peu d'affinité** pour le substrat
- Une forme dite **relâchée** notée **R** active ou chaque protomère montre une **forte affinité** pour le substrat.

La coopérativité : Le principe de base à retenir est que toute sous-unité catalytique fixant le substrat subit une *déformation (transition allostérique)* qui va se transmettre aux autres sous-unités et donc modifier leur affinité pour le substrat.

Ces modèles étudient donc des sous-unités spatiales présentant les formes T et R.

- une forme T (tendue) à faible affinité pour le substrat = inactive
- une forme R (relâchée) à forte affinité pour le substrat = active

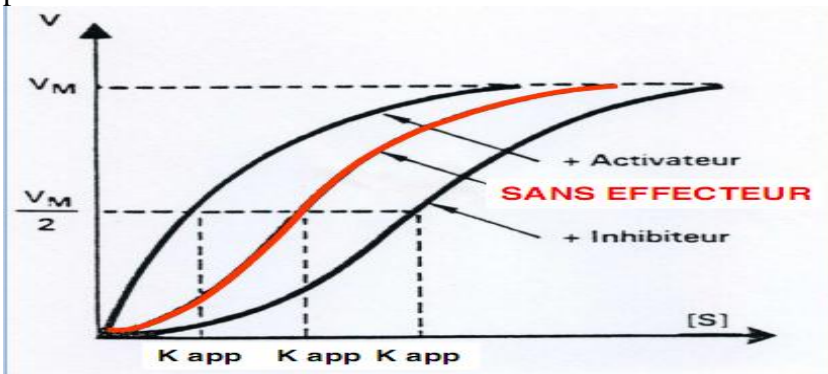
3- Schéma d'une transition allostérique



Si l'on étudie $v = f([S])$ on obtient une courbe **sigmoïde**.

Ce type de courbe traduit **un effet coopératif** du substrat, c'est-à-dire que la fixation d'une première molécule de substrat sur l'enzyme facilite la fixation d'une seconde.

Cet effet coopératif n'est concevable que si la protéine possède plusieurs sites de fixation du substrat, situation qui implique généralement que la protéine soit de **nature oligomérique**, c'est-à-dire formée de plusieurs sous-unités.



Un effecteur inhibiteur favorisera le maintien de la forme T (inactive = sans affinité pour S) de l'enzyme = allostérie négative.

Un effecteur activateur favorisera le maintien de la forme R (active = avec affinité pour S) de l'enzyme = allostérie positive

VIII- Unité d'activité enzymatique :

- 1- **Unité internationale** : (abréviation U.I) est définie comme la quantité d'enzyme qui produit la transformation d'une micromole de substrat par minute à 25°C ($\mu\text{mole min}^{-1}$)
- 2- **Le katal (kat)** : quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de **1 mole** de substrat par **seconde**.