



Faculté de médecine d'Alger
Département de médecine dentaire
Année universitaire 2022/2023



Enzymologie

Présenté par: Dr Rachid. N
Cours de 1 ère année médecine dentaire

Plan

Introduction

I. Généralités et définitions

II. Structure des enzymes

III. Nomenclature et classification des enzymes

IV. Cinétique enzymatique

V. Cinétique michaelienne

VI. Les facteurs influençant la réaction enzymatique

VII. Les enzymes allostériques

VIII. Les applications de l'enzymologie

Introduction

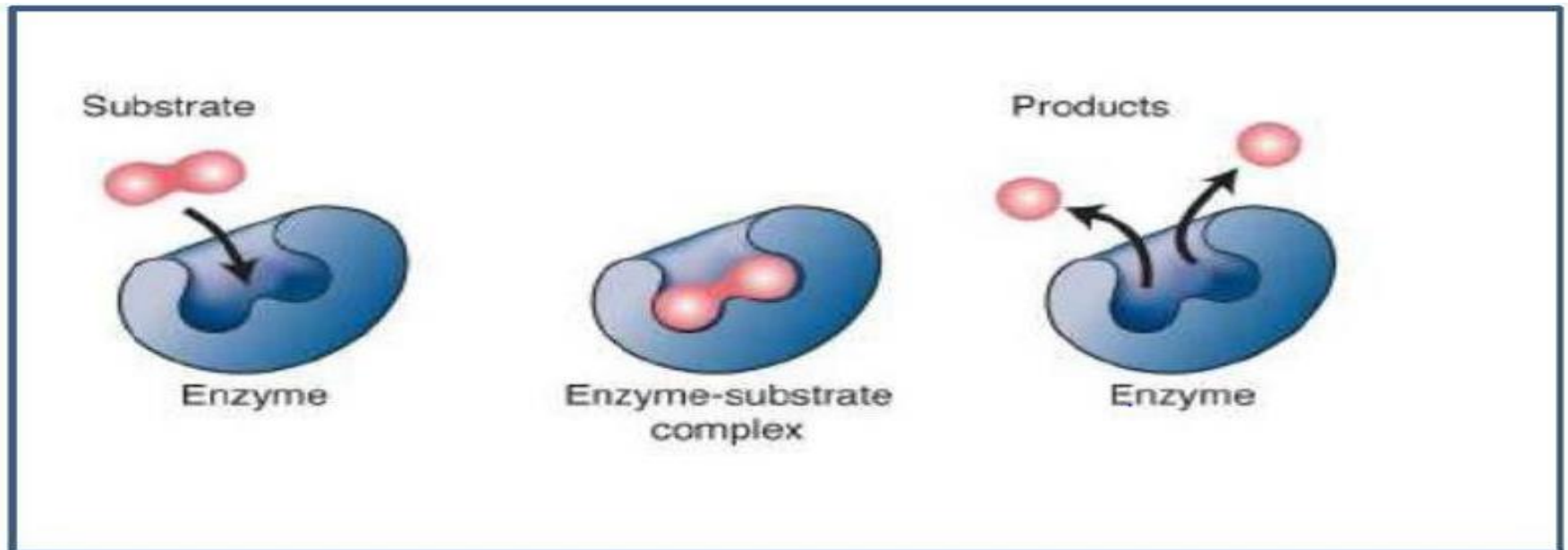
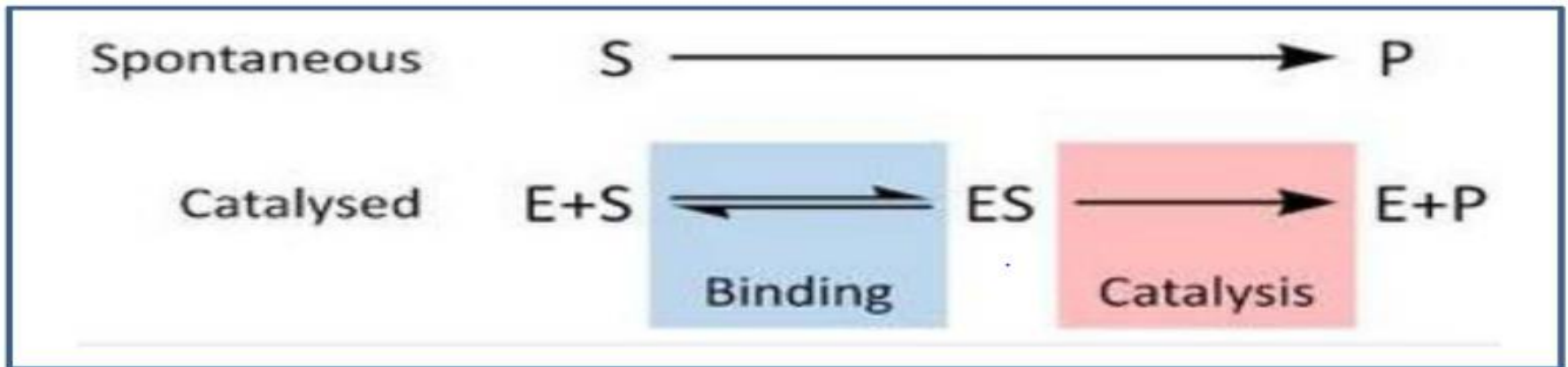
- Le déroulement rapide et efficace des réactions biochimiques doit se faire en présence de **Biocatalyseurs**.
- Certaines protéines sont douées d'activité catalytique spécifique ; il s'agit des **enzymes**.
- Ces dernières occupent une place importante dans le métabolisme intermédiaire en assurant le déroulement ordonné et régulé des processus physiologiques et maintenir leur homéostasie.
- L'étude de la structure, des caractéristiques et de la cinétique des enzymes est indispensable pour la compréhension des activités enzymatiques.

I- Généralités et définitions

1- Les enzymes

- Sont des **protéines globulaires** capables de **catalyser** des réactions chimiques (Biocatalyseurs) dans les conditions compatibles avec la vie (Température, Pression et concentration).
- **Catalyseurs**: agissent à **faible concentration** en augmentant les **vitesse des réactions chimiques** de plusieurs ordres de grandeur tout en restant intacts à la fin de la réaction.
- **Biologiques** : produits par la cellule, toutes les enzymes sont des **protéines** sauf les ribozymes (ARN catalytiques)
- Elles interviennent dans diverses réactions de dégradation, ou de synthèse.

2-Réaction enzymatique



Les Intervenants de la réaction enzymatique

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

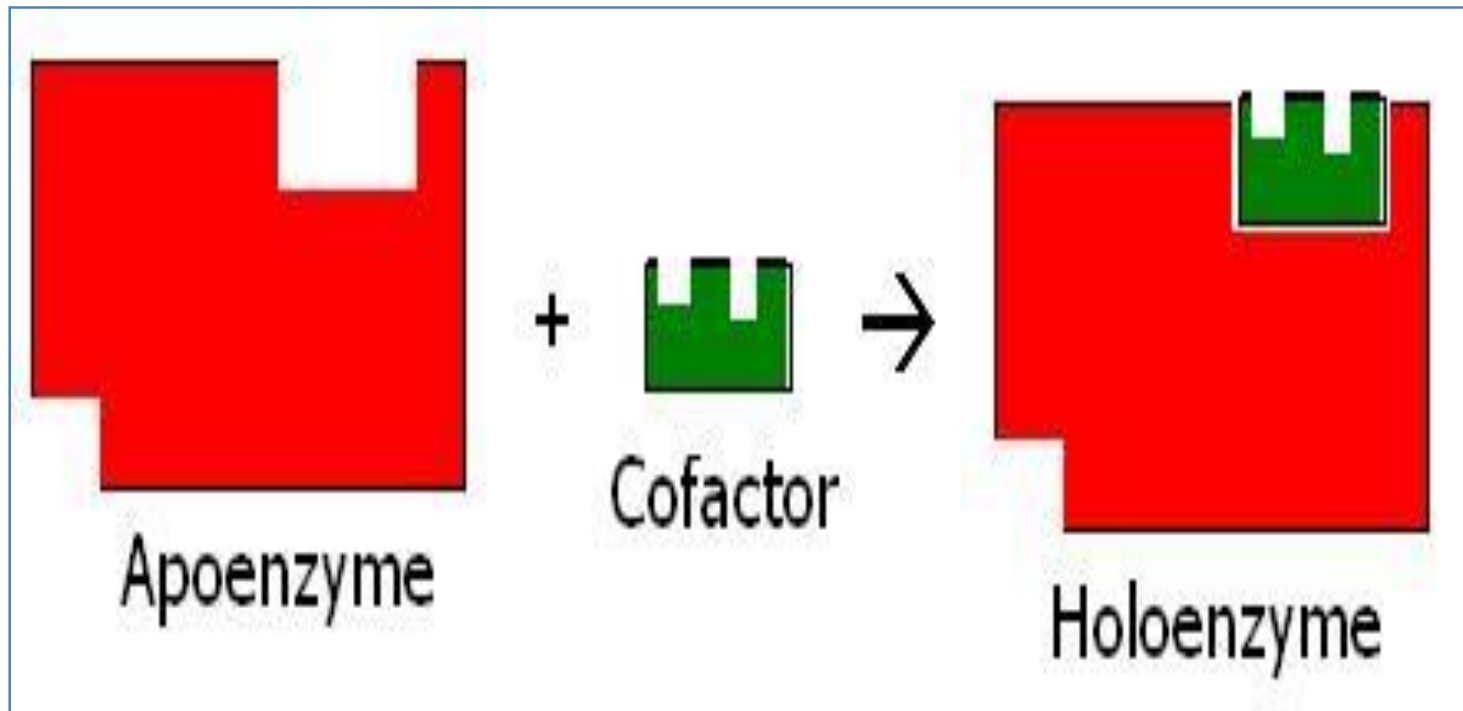
4-Produit : Molécule qui **apparaît** au cours d'une réaction catalysée par une enzyme. Cette molécule résulte de la transformation du substrat.

5-Ligand : Corps chimique ayant une **liaison spécifique** avec une enzyme. Pour chaque ligand, il existe au **moins un site de fixation** sur la protéine qui le reçoit.

II-Structure des enzymes

- Les enzymes sont des composés biologiques de **nature protéique** (en général) doués d'activité catalytique.
- Certaines enzymes ne sont constituées que d'une **partie protéique** qui assure à la fois la reconnaissance du substrat et sa transformation, l'enzyme est **une holoprotéine**.

- D'autres comprennent une **partie protéique** (**apoenzyme**) spécifique de la fixation du substrat et une **partie non protéique** (**cofacteur**) spécifique de la réaction catalysée, l'enzyme est **une hétéroprotéine** (**holoenzyme**).



1. Apoenzyme:

On distingue plusieurs niveaux d'organisation structurale des protéines, classé par ordre de complexité croissante en:

- **Structure primaire** : enchaînement des aminoacides dans un ordre déterminé.
- **Structure secondaire** : structuration en hélice α et feuillet plissé β .
- **Structure tertiaire** : repliement de la protéine pour former un globule.
- **Structure quaternaire** : association de plusieurs s/u identiques ou différentes.

➔ Les enzymes présentent un maximum de quatre niveaux d'organisation structurale



Structure primaire
Séquence
primaire
des a.a.



Structure secondaire
Premier
repliement par
des liaisons H



Structure tertiaire
Deuxième
repliement par
des liaisons
diverses à
intervalle
irrégulier.



Structure quaternaire
Interaction de diverses
chaînes déjà en structure
tertiaire.

La **conformation native** des enzymes formées d'une seule chaîne polypeptidique est une structure tertiaire.

La **conformation native** des enzymes formées de plusieurs chaînes polypeptidiques est une structure quaternaire.

- A partir de la **structure tertiaire** il y a apparition de la **fonction catalytique** des enzymes : les résidus polaires sont au contact du solvant (pour les protéines solubles) et les résidus hydrophobes sont tournés vers l'intérieur, formant une cavité interne = **site actif de l'enzyme**.
- A partir de la **structure quaternaire** il y a apparition de l'activité **régulatrice** des enzymes.
- Comme il peut exister un **site actif à l'interface des différentes sous unités** par rapprochement des sites nécessaires à l'activité catalytique sur chaque protomère.
- La **dénaturation de l'enzyme** (destruction de la structure III/ IV) s'accompagne d'une **perte de l'activité biologique**.

2. Cofacteur:

- Certaines enzymes sont **actives par elles mêmes**, sans autres groupes fonctionnels, d'autres au contraire nécessitent la présence d'un composé **non protéique** appelé **cofacteur**.
- **Cofacteur**: corps chimique intervenant **obligatoirement** dans une réaction enzymatique :
 - Pour **transporter** ou **compléter** un substrat ;
 - Pour **accepter** un produit ;
 - Comme **participant à la structure** de l'enzyme.

Les cofacteurs peuvent être :

- **Des ions métalliques activateurs:** de nature inorganique, L'absence de ces activateurs peut provoquer l'inactivation totale ou partielle de l'enzyme.

Ions	Enzymes
Cu 2+	Cytochrome oxydase
Fe 2+ ou Fe3+	Cytochrome oxydase, catalase, peroxydase
K+	Pyruvate kinase
Mg2+	Héxokinase, glucose6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn2+	Arginase, ribonucléotide réductase
Mo	Dinitogenase
Ni 2+	Uréase
Se	Glutathion peroxydase
Zn 2+	Anhydrase carbonique, alcool déshydrogénase, carboxypeptidases A et B

➤ **Coenzymes** : sont des molécules organiques de nature non protéique, ils sont donc, thermostables et ont un faible poids moléculaire.

- Le plus souvent dérivent des vitamines (groupe B). On distingue:

✓ **Les coenzymes libres :**

- Forment de faibles liaisons avec l'enzyme.
- Interviennent dans la réaction de manière stœchiométrique.
- Leur concentration est du même grandeur que celle du substrat.
- Se dissocient de l'enzyme à chaque réaction catalysée.

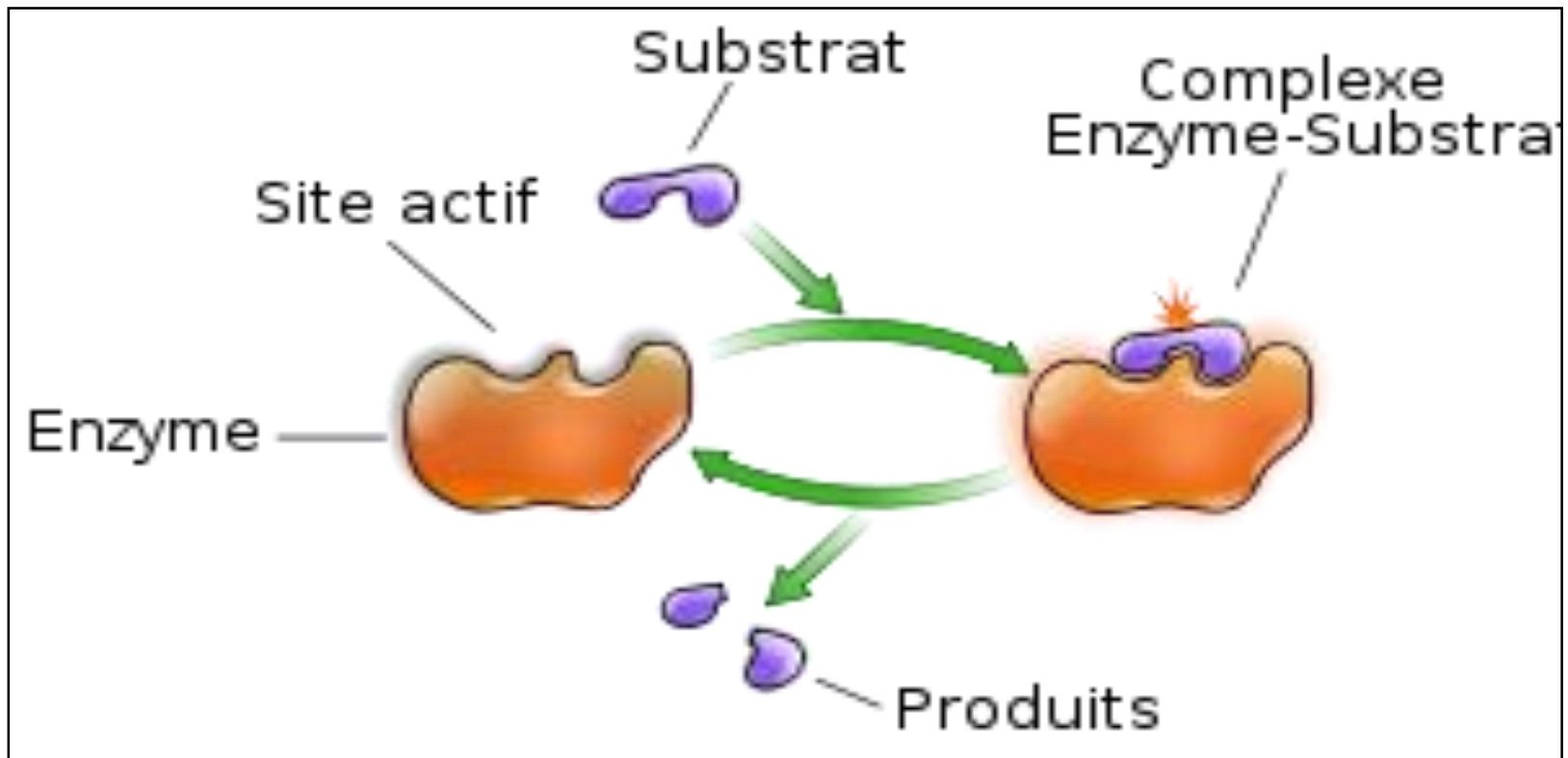
✓ **Les coenzymes liés:**

- Forment de fortes liaisons avec l'enzyme.
- Interviennent dans la réaction de manière catalytique.
- Leur concentration est du même grandeur que celle de l'enzyme.
- Ne se dissocient pas de l'enzyme.

Coenzyme	Rôle métabolique	Origine vitaminique
Principaux coenzymes activateurs		
Flavine mononucléotide (FMN) Flavine adénine dinucléotide (FAD)	Réaction d'oxydoréduction impliquant le transfert d'un ou de deux électrons	Riboflavine (vitamine B ₂)
Thiamine pyrophosphate (TPP)	Transfert de groupes aldéhyde	Thiamine (vitamine B ₁)
Pyridoxal phosphate (PLP)	Transfert de groupes appartenant à des aminoacides	Pyridoxine (vitamine B ₆)
Biotine	Carboxylations et transfert de carboxyles	Biotine (vitamine H)
Adénosylcobalamine Méthylcobalamine	Réarrangements intramoléculaires et transfert de méthyles	Cobalamine (vitamine B ₁₂)
Lipoamide	Oxydation d'un groupe hydroxyalkyle	Vitamine A
<i>cis</i> -Rétinal	Vision	Vitamine K
Vitamine K	Carboxylation de résidus glutamate	

3. Le site actif :

Le site actif d'une enzyme est la région où se fixe le/les substrats et le coenzyme et où a lieu la réaction, il a la forme d'une cavité, située dans la zone interne hydrophobe de la protéine.



Il possède deux parties fonctionnelles :

- **Le site de fixation - reconnaissance du substrat** : constitué d'**acides aminés auxiliaires** qui sont responsables de l'**orientation du substrat** et de la **flexibilité** de la structure.
- **Le site catalytique** : constitué d'**acides aminés de contact** qui sont directement impliqués dans la **catalyse enzymatique**. Ces résidus sont souvent localisés dans le **fond de la cavité**, et dans la majorité des cas, possèdent des chaînes latérales ioniques ou réactives (ex. His, Lys, Cys, Ser, Asp, Glu).
- Il existe aussi un 3ème type d'acides aminés dits **acides aminés contributeurs** qui sont impliqués dans le **maintien de la conformation particulière du site actif**.

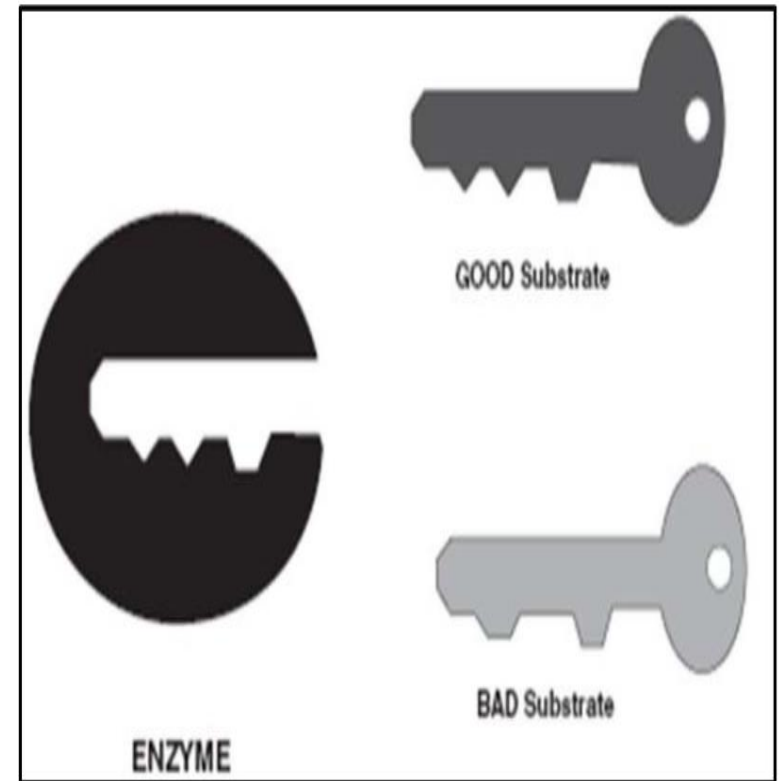
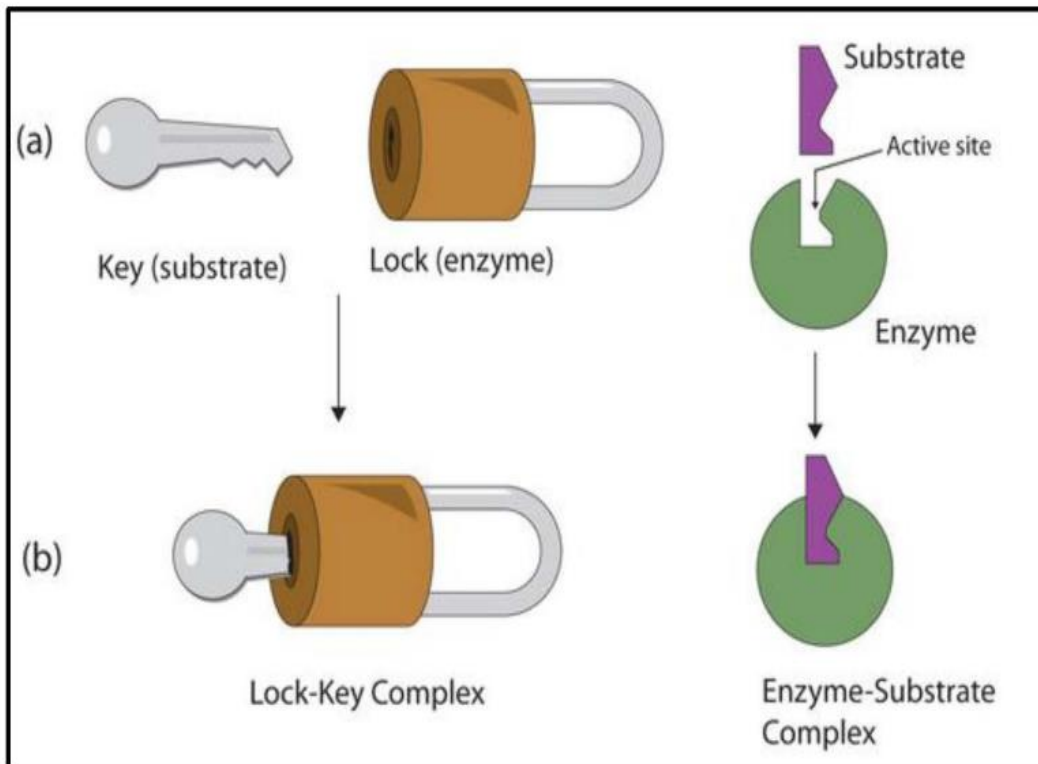
- La réaction enzymatique fait appel à la fixation du substrat au niveau du site actif.
- Le site actif doit être dans une conformation spatiale de telle sorte que le substrat puisse s'y fixer, il existe différents modèles :

❖ Model de Fisher

❖ Model de Koshland

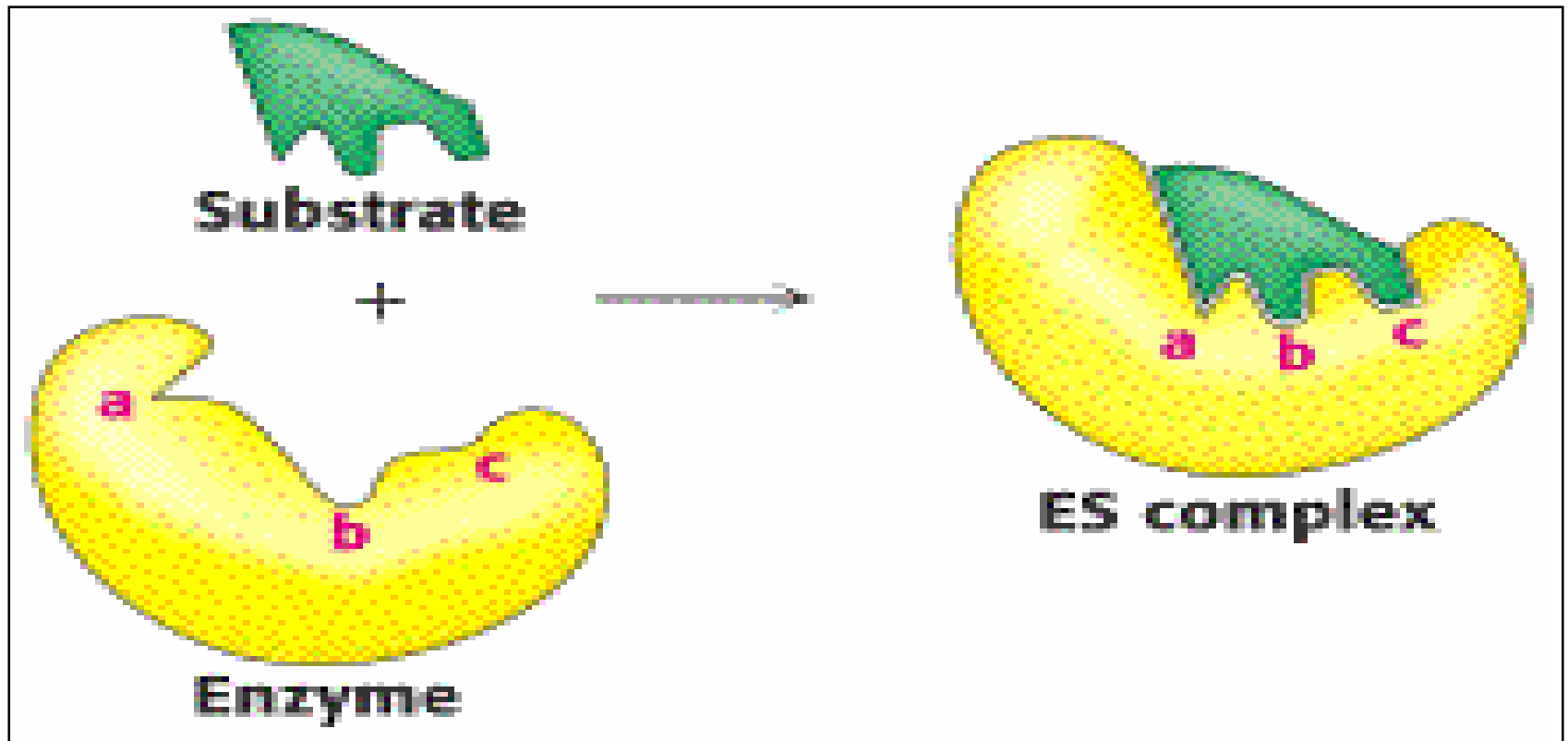
❖ Modèle de Fisher (1894) :

- Propose le **modèle de la clé et de la serrure** : la **forme** du substrat = clé est **complémentaire** de celle du **site actif** de l'enzyme = serrure.
- Ce modèle explique la spécificité de l'enzyme pour son substrat, mais il n'explique pas l'effet des effecteurs.



❖ Modèle de Koshland(1985) : Ajustement induit

- L'association enzyme-substrat est permise après une **modification de la conformation** de l'enzyme induite par l'entrée partielle du substrat.



4. Les variétés moléculaires des enzymes:

4.1. Enzymes monomériques:

- Se sont les enzymes formés d'une seule s/u (protomère), ils adoptent une structure tertiaire ; ex : la *ribonucléase* (124 résidus d'AA).

4.2 Enzymes oligomériques:

- Se sont les enzymes formés de plusieurs s/u (polymères), ils adoptent une structure quaternaire ; ex : la *lactate déshydrogénase* (4 protomères)

4.3. Complexes multi-enzymatiques

- Un complexe multi-enzymatique est formé de **plusieurs enzymes et coenzymes**, l'exemple classique est celui de *la pyruvate déshydrogénase* : complexe multienzymatique de localisation mitochondriale, formé de trois enzymes et 5 coenzymes différents :
 - E1 : *Pyruvate déshydrogénase* (EC 1.2.4.1), ayant le **TPP** (Thiamine Pyrophosphate) comme groupe prosthétique.
 - E2 : *Dihydrolipoyle transacétylase* (EC 2.3.1.12), ayant un groupe lipoyle (**acide lipoïque**) comme groupe prosthétique et le **Co-enzyme-A** comme co-substrat.
 - E3 : *Dihydrolipoyle déshydrogénase* (EC 1.8.1.4), à **coenzymes FAD et NAD** (oxydoréduction).




4.4. Isoenzymes:

- Se sont des **variétés moléculaires** d'une même enzyme, qui possèdent une **activité catalytique identique** (catalysent la même réaction sur le même substrat), mais des **structures protéiques différentes** (conformations spatiales différentes) à **propriétés physico-chimiques différentes et localisation tissulaire différente**. Ex: lactate déshydrogénase LDH (5 isoenzymes).

4.5. Proenzymes (zymogènes)

- C'est des **précurseurs protéiques inactifs** qui font appel à une **protéolyse sélective** qui va **démasquer le site actif** initialement caché produisant ainsi l'enzyme mature (active).

Exp :

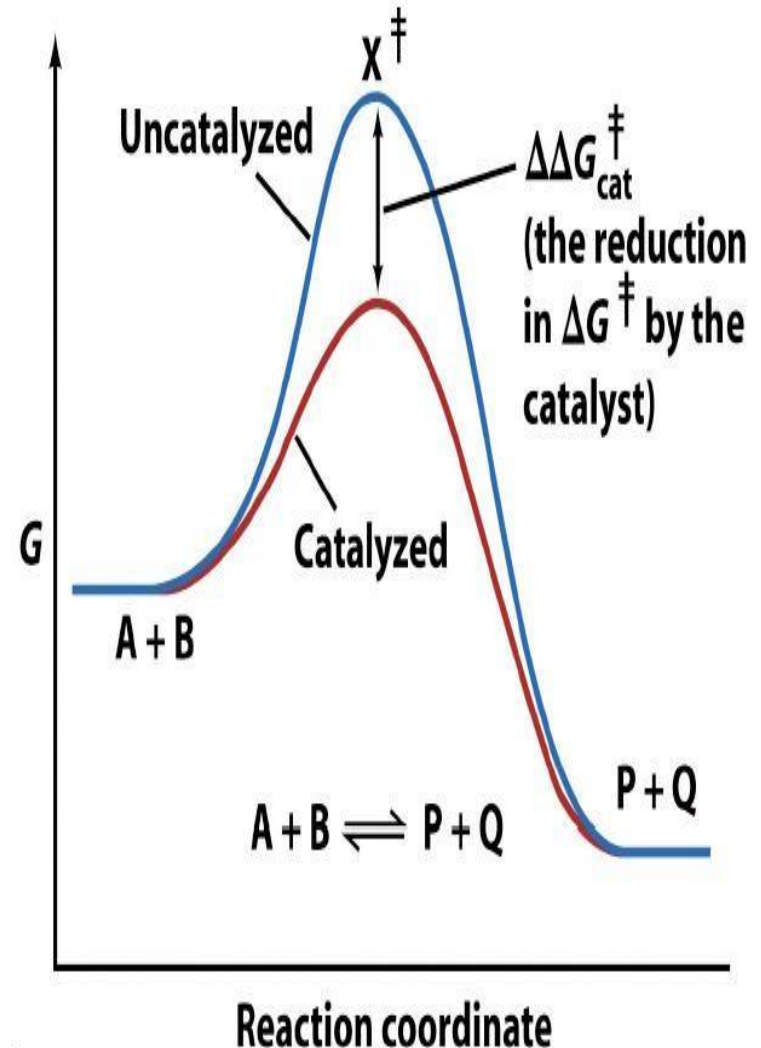
- Pepsinogène  pepsine
- Trypsinogène  trypsine
- Chymotrypsinogène  chymotrypsine

III-Propriétés générales des **enzymes**

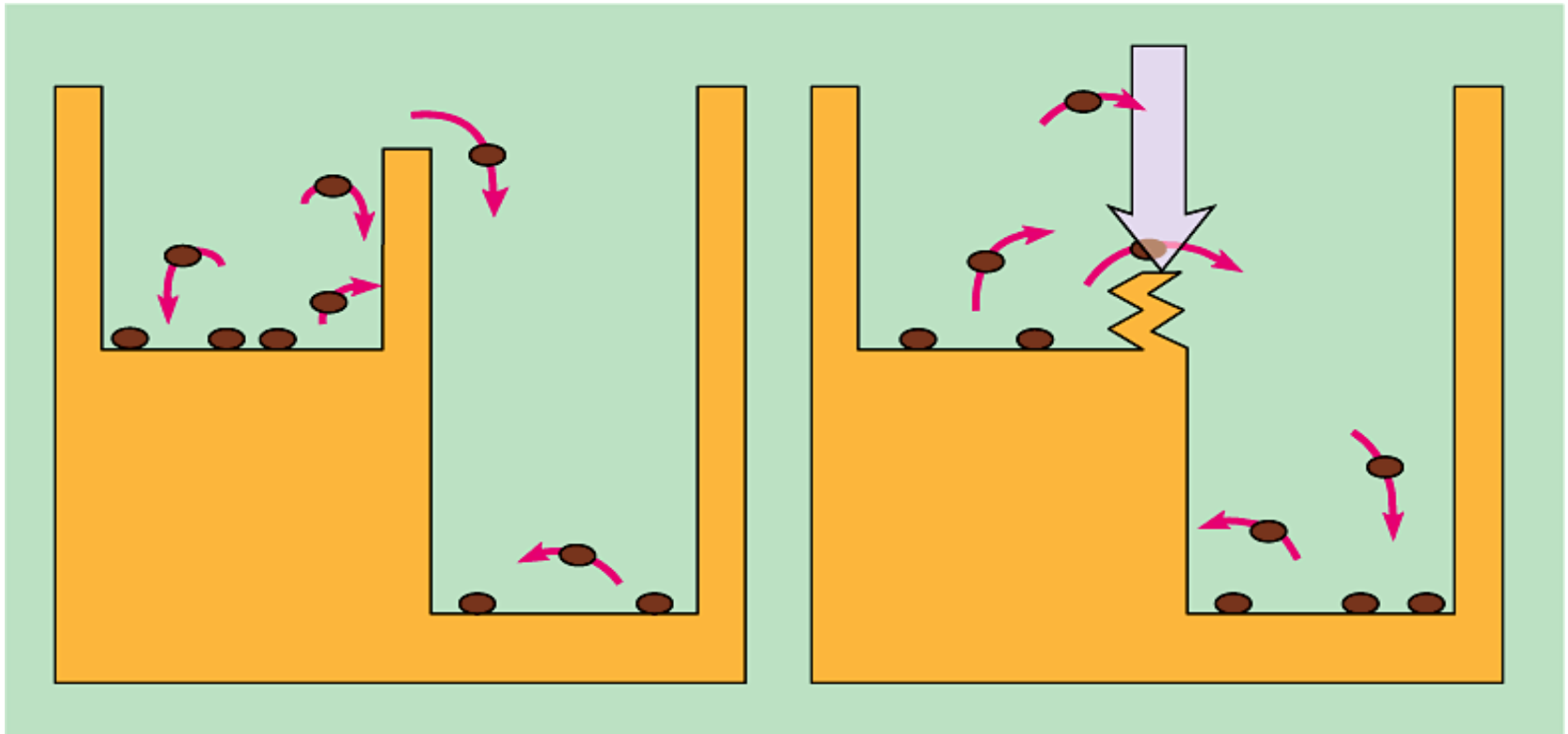
1. Propriétés d'un catalyseur chimique:

- La **catalyse** est un processus qui **augmente la vitesse** d'obtention de l'équilibre réactionnel.
- La différence d'énergie libre entre les réactifs et les produits ΔG explique **l'équilibre** de la réaction mais pas la vitesse à laquelle cet équilibre est atteint.
- Une réaction chimique qui transforme un substrat **S** en un produit **P** passe **par un état de transition S^\ddagger qui a une énergie libre plus élevée** que celle de S et de P.

Energie d'activation – Diagramme d'état de transition
Effet du catalyseur = abaisser la barrière énergétique



- La différence d'énergie libre entre le substrat S et l'état de transition S[‡] est appelée énergie **libre d'activation** ΔG^\ddagger .
- Les enzymes **agissent en abaissant** cette ΔG^\ddagger = **facilitant la formation de l'état de transition** : la combinaison du substrat et de l'enzyme crée une nouvelle voie de réaction dont la ΔG^\ddagger est plus faible que celle de la voie empruntée en l'absence d'enzyme.



- Les enzymes sont donc des **biocatalyseurs** permettant **d'augmenter la vitesse** d'une réaction en **abaissant la barrière d'activation** de la réaction.



- L'énergie d'activation nécessaire à la décomposition de H_2O_2 est de :
 - **75 KJ.mol⁻¹** en absence de catalyseur,
 - **49 KJ.mol⁻¹** en présence de catalyseur chimique (platine colloïdal)
 - **8,4 KJ.mol⁻¹** (environ) en présence de catalyseur enzymatique (catalase).

2. Spécificité des enzymes :

Les enzymes sont hautement spécifiques :

- Spécificité d'action: l'enzyme ne catalyse, pour un substrat donné, qu'un seul type de réactions:
 - Kinases : les réactions de phosphorylation en présence d'ATP.
 - Décarboxylases : enlèvement d'un groupement carboxyle.

- Spécificité de substrat: l'enzyme agit sur un substrat ou une classe de substrats, on distingue :
 - Spécificité *absolue* : l'enzyme n'agit que sur un substrat unique. Exemple : Glucokinase : ne phosphoryle que le glucose.

 - Spécificité *large* : l'enzyme agit sur plusieurs substrats d'une même classe. Exemple : Hexokinase : phosphoryle divers hexoses, dont le glucose.

Remarque: La spécificité d'une enzyme est due à son site actif.

3. Nature protéique:

- Toutes les enzymes sont des **protéines** sauf les ribozymes, et de ce fait elles se **dénaturent** sous l'effet de la **chaleur**.

4. Régulables:

- Certaines enzymes **modifient leurs activités catalytiques** en réponse à des **signaux métaboliques**, ce qui permet l'**ajustement** de l'offre métabolique à la demande cellulaire.

Exemple: La **phosphofructokinase**: activée par **l'AMP** et inhibée par **l'ATP**.

- Cette modulation active ou inhibe la glycolyse selon que la charge énergétique est faible ou élevée.

