

# Cours d'Enzymologie



Destiné aux étudiants **L3 Génétique**

Année universitaire 2022-2023

Conçu par Dr. BECHKRI S.  
Maitre de Conférences catégorie A  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Université Frères Mentouri Constantine 1

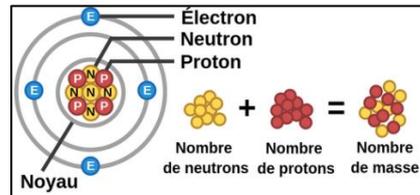
## I. Rappels et notions fondamentales

### I.1. Molécules, atomes et ions

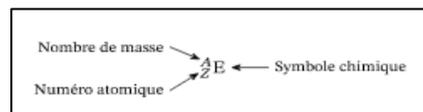
La matière est constituée d'atomes ou de molécules.

#### I.1.1. Atome

Un atome est constitué d'un noyau autour duquel tournent des électrons (chargés -). Le noyau atomique est constitué de protons (chargés +) et de neutrons (non chargés). Un atome est neutre lorsque le nombre d'électrons est égal au nombre de protons.

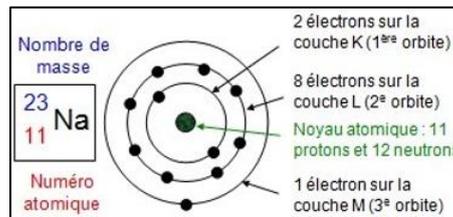


Tous les atomes sont répertoriés dans le tableau périodique. Le tableau périodique établi par Dmitri Mendeleïev en 1869, comptait alors 63 éléments. Aujourd'hui, il en compte 118.

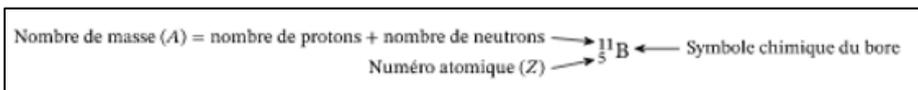


**Exemple :** symbole de l'atome de sodium

En regardant le tableau périodique, nous voyons que l'élément sodium a un numéro atomique de 11. Cela signifie que cet ion sodium contient 11 protons. La notation de cet atome sodium serait donc comme suit :



Nous pouvons représenter un atome de bore qui contient 5 protons, 6 neutrons et 5 électrons avec la notation de nucléide suivante :



#### I.1.2. Molécule

Une molécule est un assemblage d'atomes.

- Exemples de molécules diatomiques (2 atomes)

O<sub>2</sub> : dioxygène, H<sub>2</sub> : dihydrogène, Cl<sub>2</sub> : dichlore, N<sub>2</sub> : diazote, HCl : chlorure d'hydrogène ou acide chlorhydrique, CO : monoxyde de carbone.

### - Molécules triatomiques (3 atomes)

La plus répandue sur la terre est la molécule d'eau. Sa formule chimique est  $H_2O$ . Elle est formée d'un atome d'oxygène et de deux atomes d'hydrogène. D'autres exemples : dioxyde de carbone ( $CO_2$ ), ozone ( $O_3$ ).

### - Molécules quadriatomiques (4 atomes)

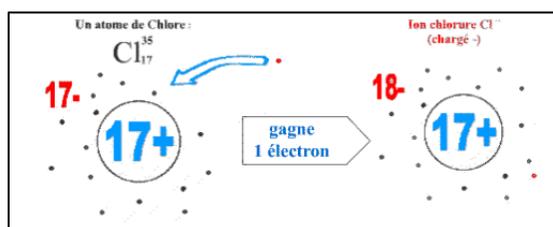
- **La molécule d'ammoniac** : Sa formule chimique est  $NH_3$ . Elle est formée de 1 atome d'azote (N) et de 3 atomes d'hydrogène.
- **La molécule de méthane** : Sa formule chimique est  $CH_4$ . Elle est formée de 1 atome de carbone et de 4 atomes d'hydrogène.

## I.1.3. Ion

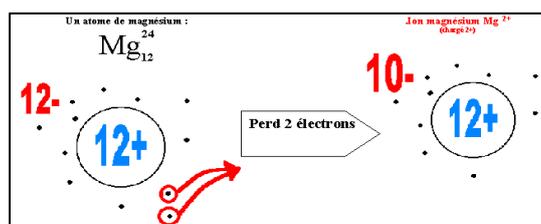
Un ion simple (monoatomique) est un atome qui a perdu ou gagné des électrons.

### Exemples

- L'atome de chlore est neutre : il y a autant de charges + que de charges -. L'ion chlorure est une particule chargée car il n'y a plus équilibre entre charges + et charges -. L'ion chlorure porte une charge négative.

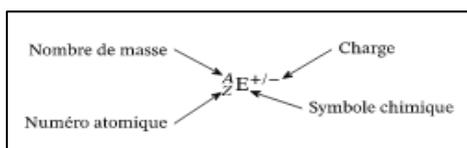


- L'ion magnésium porte 2 charges positives :



Lorsqu'on écrit une charge, on écrit d'abord la valeur numérique puis le signe. Par exemple, une double charge positive doit être écrite  $2+$

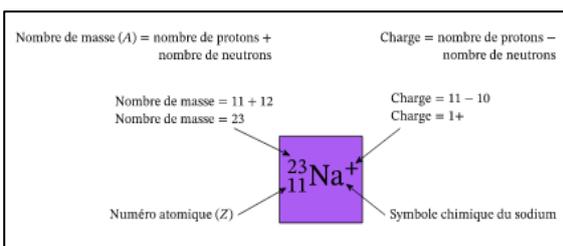
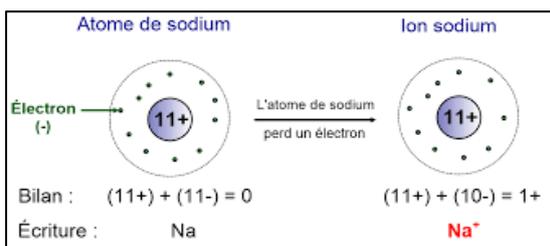
On peut inclure la charge d'un ion en écrivant la charge en exposant après le symbole de l'élément.



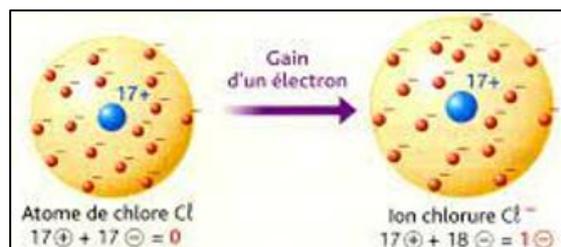
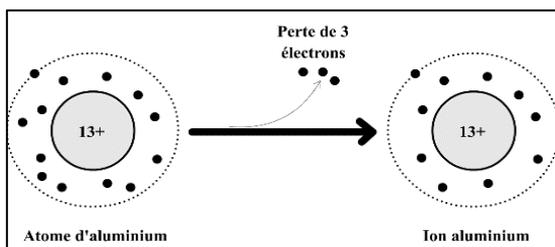
### - Calcul de la charge d'un ion

Charge de l'ion = nombre de protons – nombre d'électrons

Dans le cas de l'ion sodium :



D'autres exemples :



### Exercice d'application

Déterminer le nombre de protons, de neutrons et d'électrons dans un ion à partir de la notation de nucléides. Un ion cuivre à la notation  $^{65}_{29}\text{Cu}^{2+}$

- Combien y a-t-il de protons dans cet ion de cuivre ?
- Combien y a-t-il de neutrons dans cet ion de cuivre ?
- Combien y a-t-il d'électrons dans cet ion de cuivre ?

### Solution

- Dans la notation de nucléide, le nombre en bas à gauche et le numéro atomique. Le numéro atomique représente le nombre de protons dans le noyau d'un atome, d'un isotope ou d'un ion de l'élément. Par conséquent, ayant le numéro atomique 29, cet ion de cuivre possède 29 protons
- Dans la notation de nucléide, le nombre en haut à gauche est le nombre de masse. Le nombre de masse et le nombre total de nucléons dans le noyau d'un atome, isotope ou ion. Le terme nucléons désigne collectivement les protons et les neutrons. L'équation suivante peut être utilisée pour calculer le nombre de masse :

$$\text{Nombre de masse} = \text{nombre de protons} + \text{nombre de neutrons}$$

Nous avons déjà établi que cet ion cuivre possède 29 protons. Nous pouvons substituer le nombre de protons et le nombre de masse dans l'équation du nombre de masse et résoudre cette dernière pour obtenir le nombre de neutrons :  $65 = 29 + \text{nombre de neutrons} = 36$ .

- Le nombre inscrit dans le coin supérieur droit représente la charge de l'ion. La charge d'un ion peut être calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Charge} = \text{nombre de protons} - \text{nombre d'électrons}$$

On peut substituer la charge et le nombre de protons dans l'équation et trouver le nombre d'électrons :  $2+ = 29 - \text{nombre d'électrons} = 27$ .

## I.2. Principes de thermodynamique

### I.2.1. Notion de système

Un système est formé par une réunion de matières constituant un ensemble cohérent pouvant être considéré comme un tout. Exemple : une cellule vivante peut être assimilée à un système.

Il existe 3 types de systèmes :

- **Système ouvert** : échange de l'énergie et de la matière entre le système considéré et l'environnement
- **Système fermé ou clos** : échange de l'énergie et pas de la matière
- **Système isolé dit adiabatique** : aucun échange (ni énergie ni matière).

L'être vivant est considéré comme un système ouvert dit biosystème entouré par ce qui est à l'extérieur ou écosystème.

### I.2.2. Enthalpie (H)

L'enthalpie (H) est l'énergie totale d'un système, soit la somme de tous les types d'énergie qu'il contient à pression constante. Elle est exprimée en joules (J) ou en kilojoules (kJ).

- Dans un processus exothermique, il y a production de la chaleur par le système ( $\Delta H < 0$ )
- Dans un processus endothermique, il y a absorption de la chaleur par le système ( $\Delta H > 0$ ).

### I.2.3. Etat standard (ou état de référence)

Pour pouvoir comparer entre elles les fonctions d'état des systèmes, on définit un état de référence dit standard caractérisé par des variables d'état suivants :

- Concentrations des produits et des réactants = 1 Mol/l
- Pression = 1 atm pour les gaz
- $[H^+] = 1 \text{ pH} = 0$
- Température entre 25 et 27°C (ou 298°K).

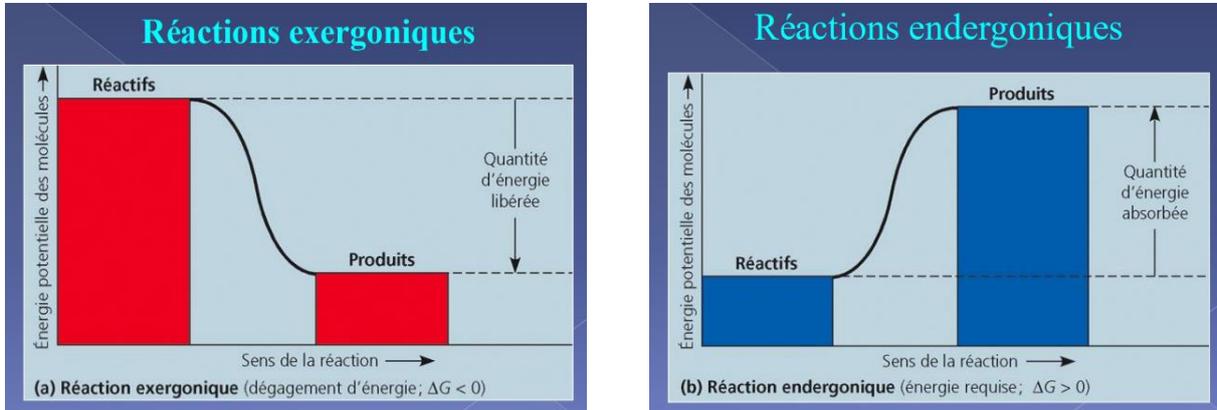
### I.2.4. Variations d'énergie libre de Gibbs (G) et constante d'équilibre

La variation d'énergie libre de Gibbs (G) mesure la partie de l'énergie d'un système qui produit un travail. Autrement dit,  $\Delta G$  représente **la quantité de travail disponible pour réaliser la réaction**.  $\Delta G$  permet de prévoir le sens de la réaction.

Tous les systèmes tendent spontanément vers un état d'équilibre car c'est l'état le plus stable.

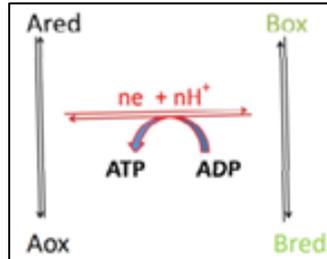
- Plus on s'approche de l'état d'équilibre, plus la capacité d'un système à fournir un travail diminue car l'énergie potentielle est de plus en plus faible.

- A l'équilibre,  $\Delta G = 0$
- Quand  $\Delta G < 0$ , la réaction est spontanée, le processus est donc exergonique.
- Quand  $\Delta G > 0$ , il faut un apport d'énergie du milieu extérieur au système, le processus est donc endergonique.



Les réactions endergoniques ne pouvant se produire que couplées à des réactions exergoniques par l'intermédiaire d'un composé commun aux 2 réactions, ce composé commun sera souvent l'ATP :  $X\sim P + ADP \longrightarrow X + ATP$        $ATP + Y \longrightarrow Y\sim P + ADP$

La phosphorylation d'ADP ne peut se produire que couplée à une réaction exergonique au cours de laquelle intervient des transferts d'électrons.



La faisabilité d'une réaction chimique est déterminée par la variation de son énergie libre. Disons que la réaction :  $A + B \longrightarrow C + D$ , se fait dans le sens de la variation de l'énergie libre. On peut définir, à l'instant initial ou à n'importe quel moment de l'évolution de la réaction, la constante de réaction **K** dite constante de Gibbs :  $K = \frac{[\text{Produit}]}{[\text{réactant}]}$

$$K = \frac{[C] \cdot [D]}{[A] \cdot [B]}$$

**Relation de Gibbs :**       $\Delta G = \Delta G_0 + R \cdot T \ln K$

$$\Delta G = \Delta G_0 + R \cdot T \ln \left( \frac{[C] \cdot [D]}{[A] \cdot [B]} \right)$$

$\Delta G$  : variation de l'enthalpie (énergie) libre du système réactionnel

$\Delta G_0$  : variation de l'enthalpie libre **standard** du système réactionnel

R : constante des gaz parfaits (1,987 cal/mol/degé ou 8,314 J/mol/degé)

T : température absolue en Kelvin ( $T \text{ } ^\circ\text{C} + 273$ ).

Dans les conditions standard, la constante  $K = 1$  et  $\ln K = 0$  dans la relation de Gibbs. On en déduit que  $\Delta G = \Delta G_0$ .

Lorsqu'un système évolue vers l'équilibre, l'enthalpie libre  $\Delta G$  diminue et s'annule à l'équilibre ( $\Delta G = 0$ ), pendant que la constante de réaction  $K$  tend vers la constante d'équilibre  $K_e$ . En reportant ces valeurs dans la relation de Gibbs, on en déduit :  $\Delta G_0 = -RT \ln K_e$

Ainsi, à l'état d'équilibre  $\Delta G_0 = -R.T \ln ([C] \cdot [D] / [A] \cdot [B])$

- Si  $\Delta G$  est négative, la réaction se fait dans le sens  $A + B \longrightarrow C + D$ .
- Si  $\Delta G$  est positive, la réaction se fait dans le sens contraire  $C + D \longrightarrow A + B$

**Si on a la réaction :  $1 \longrightarrow 2$**

**$K = 1 : \Delta G_0 = 0$**

**$K < 1 : \Delta G_0 > 0$ , réaction de 2 vers 1**

**$K > 1 : \Delta G_0 < 0$ , réaction de 1 vers 2**

Quand on connaît la constante d'équilibre d'une réaction, la variation d'enthalpie libre standard, est calculée, à 25 °C, comme suit :

$$\Delta G_0 = -1,987 \times 298 \times \ln K_e = -592 \times \ln K_e \text{ (cal / mol)}$$

ou

$$\Delta G_0 = -8,314 \times 298 \times \ln K_e = -2478 \times \ln K_e \text{ (J / mol)}$$

### **I.2.5. Conditions biochimiques et calcul de $\Delta G'$ et de $\Delta G^{\circ'}$**

$\Delta G'$  : la variation d'enthalpie libre mesurée dans les conditions générales. C'est elle qui renseigne sur le sens de l'évolution d'une réaction cellulaire.

$\Delta G_0'$  : Energie libre standard de Gibbs d'un système biologique

Les conditions biologiques sont :

- Concentration de chacun des réactants dissous égale à 1 M
- Température : 25 °C ou 298 °K
- Concentration des protons  $[H^+] = 10^{-7} \text{ Mol/l}$      $\text{pH} = 7$

$\Delta G'$  est définie comme suit par la relation de Gibbs :

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + R.T. \ln K$$

Comme précédemment, avec le même raisonnement, on déduit une relation pour le calcul de  $\Delta G^{\circ'}$  dans les conditions standards :

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln K_e$$

### **Exemple d'application**

La phosphoglucoisomérase catalyse la réaction :



Avec  $K_e = 2$ , on en déduit que :  $\Delta G^{\circ} = - 8,314 \times 298 \times \ln 2 = -1.7 \text{ kJ/mol}$  (réaction exergonique).

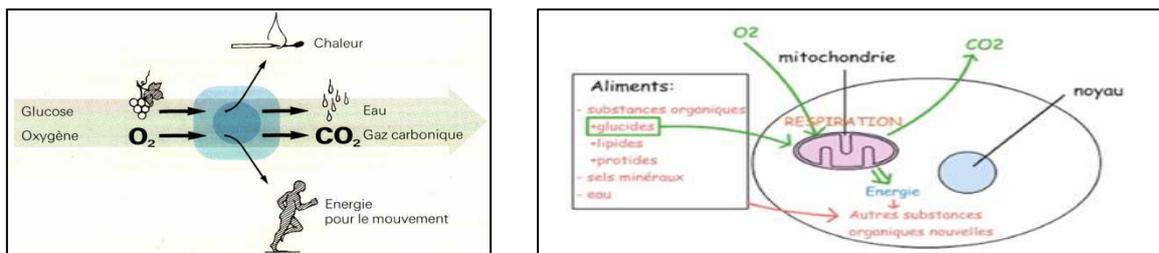
### I.3. Métabolisme et voies métaboliques

La biochimie étudie les réactions chimiques au sein de la matière vivante. Elle se subdivise en :

- Biochimie analytique
- Biochimie animale, végétale et microbienne
- Biologie moléculaire
- Biochimie structurale (structure et propriétés des différentes molécules)
- Biochimie dynamique ou métabolique (bioénergétique, enzymologie, métabolisme, régulation, perturbation).

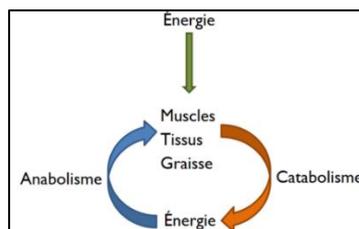
#### I.3.1. Le métabolisme

Les organismes vivants sont le siège de réactions biochimiques. Ces réactions constituent le métabolisme dont le rôle est de gérer les ressources énergétiques et matérielles de la cellule, et donc de l'organisme.



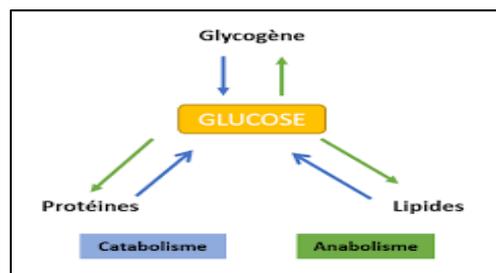
Le métabolisme est subdivisé en :

- Anabolisme : la biosynthèse des molécules biologiques.
- Catabolisme : la dégradation des molécules biologiques.



Ces réactions se déroulent dans des conditions physiologiques (pH : 7,4 et température : 37°C) grâce à la présence de catalyseurs : enzymes.

#### Exemple



### I.3.2. Les voies métaboliques

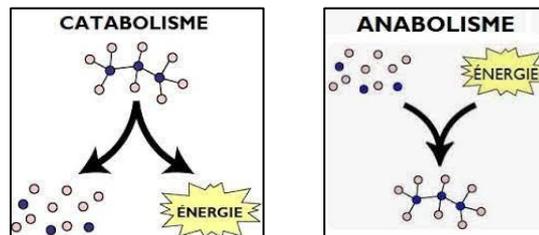
Les milliers de réactions enzymatiques qui se déroulent dans une cellule s'appellent les voies métaboliques. Elles sont profondément interconnectées.

- **Les voies cataboliques** : libèrent de l'énergie. En général, la matière est oxydée. Elles transforment les substances en un petit nombre de produits finaux, pour finir par l'oxydation complète des molécules en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$  :

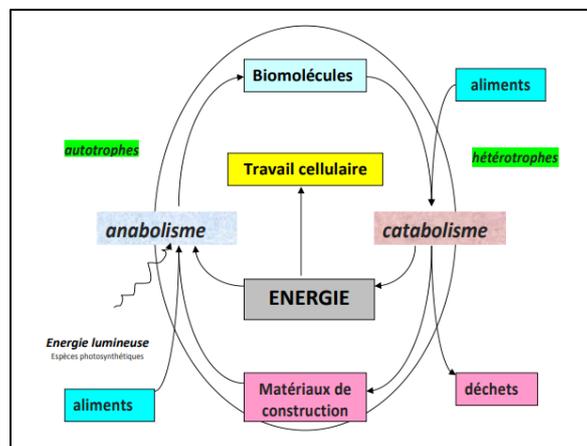
Molécules complexes  $\longrightarrow$  molécules simples + énergie

- **Les voies anaboliques** : consomment de l'énergie. En général, la matière est réduite. Les voies anaboliques partent de quelques substances de base qu'elles transforment en de nombreux produits finaux (généralement complexes) :

Molécules simples + Énergie  $\longrightarrow$  molécules complexes



Dans une voie métabolique, le produit d'une réaction est le substrat de la réaction suivante. Toute cellule survit grâce à un échange ininterrompu de matières et d'énergie entre elle-même et le milieu environnant. La cellule récupère l'énergie fabriquée par le catabolisme (aliments ou biomolécules de réserve). Elle la renvoie dans les réactions de l'anabolisme qui fabriquent les biomolécules nécessaires au bon fonctionnement de la cellule. Ainsi, ces réactions sont difficiles à classer dans une voie en raison des interconnexions. Dans chaque voie, les **intermédiaires métaboliques** deviennent les précurseurs d'autres voies (soit cataboliques soit anaboliques), souvent de sens opposés. L'énergie récupérée par la cellule sert aussi à fournir du travail (transport à travers les membranes, mouvement des structures cellulaires, ...).

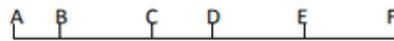


Les transferts d'énergie se font comme suit :

- *In vitro*, A donne F en une seule étape, en libérant une grande quantité d'énergie :



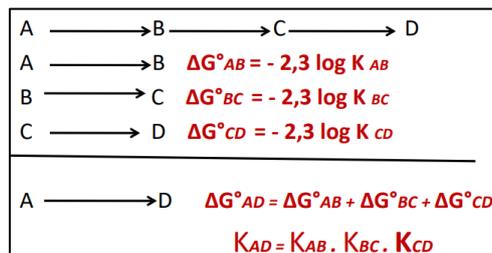
- *In vivo*, dans la cellule, cette réaction est décomposée en de nombreuses réactions intermédiaires qui libèrent, chacune, de plus faibles quantités d'énergie :



Le rendement d'une réaction décomposée en de nombreuses étapes intermédiaires (libérant chacune moins d'énergie) sera supérieur à celui d'une réaction en une seule étape. L'énergie fournie par un processus biologique est souvent couplée à un autre processus biologique qui ne pourrait pas se produire sans cette énergie. L'ensemble des deux réactions couplées constitue une nouvelle réaction dont le  $\Delta G' < 0$  (sinon elle n'est pas possible).

#### - Additivité des variations d'énergie libre

Les réactions métaboliques sont séquentielles, il n'y a pas de réaction isolée.



### I.4. Classification des liaisons en fonction de leur énergie

Les liaisons ayant un rôle dans le métabolisme peuvent être classées en 2 groupes :

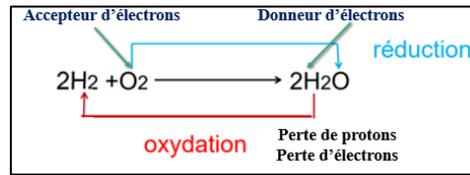
- **Les liaisons riches en énergie** qui, par hydrolyse, libèrent plus de 5 kcal/mole (21 kJ/mole). Elles sont liées à un groupement P (sauf la liaison thioester)
- **Les liaisons à faible énergie** qui, par hydrolyse, libèrent moins de 5 kcal/mole (21 kJ/mole). Ce sont principalement les esters (y compris les esters-phosphates).

La liaison riche en énergie sera symbolisée par le symbole ~. La réaction inverse de l'hydrolyse (la synthèse), possède le  $\Delta G^{\circ}$  de même valeur absolue, mais évidemment de signe opposé (c'est une réaction endergonique de  $\Delta G^{\circ} > 0$ ).

### I.5. L'oxydoréduction

L'oxydation est une déshydrogénation, tandis qu'une réduction est une hydrogénation. La plupart des réactions métaboliques sont des réactions d'oxydoréduction. En Biochimie, la perte d'électrons est associée à la perte de  $H^+$ . L'oxydation peut donc être définie comme une perte d'électrons associée à une perte de protons.

## Exemple : Oxydation de l'hydrogène



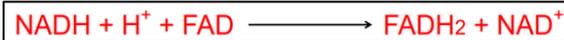
### I.5.1. Couples rédox en Biochimie

Un oxydant et un réducteur forment un couple redox si on peut passer de l'un à l'autre par gain ou perte d'électrons.

Exemples :

Forme oxydée	Forme réduite
$2\text{H}^+ + 2\text{e}$	$\text{H}_2$
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}$	$\text{NADH} + \text{H}^+$
$\text{Q} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}$	$\text{QH}_2$
$\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}$	$\text{FADH}_2$
Fumarate + $2\text{H}^+ + 2\text{e}$	Succinate
Pyruvate + $2\text{H}^+ + 2\text{e}$	Lactate

Le couple  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ,  $\text{H}^+$  cède  $\text{H}^+$  et  $\bar{\text{e}}$  au couple  $\text{FAD}/\text{FADH}_2$  :



Dans la plupart des réactions d'oxydoréduction du métabolisme cellulaire, les transferts se font par des **coenzymes** (NAD, NADP, FAD...). Ces coenzymes sont dits équivalents réducteurs ou transporteurs d'électrons.

### I.5.2. $\text{NADH}$ , $\text{H}^+ / \text{NAD}$ et $\text{FADH}_2 / \text{FAD}$ : deux couples redox accepteurs des électrons impliqués dans la production de l'ATP

Les deux couples  $\text{NADH}$ ,  $\text{H}^+ / \text{NAD}$  et  $\text{FADH}_2 / \text{FAD}$  sont impliqués dans les réactions d'oxydoréduction du catabolisme. Ils interviennent dans les réactions catalysées par des déshydrogénases (voir plus loin). Leur forme réduite est appelée cofacteur réduit riche en énergie car leurs électrons alimentent le transport des électrons dans la chaîne respiratoire à laquelle est couplée la formation d'ATP.

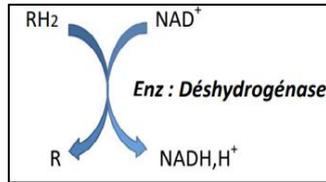
L'ensemble du processus de la formation de l'ATP, associé au transport des électrons fournis par  $\text{NADH}$ ,  $\text{H}^+$  ou/et  $\text{FADH}_2$  jusqu'à l'oxygène s'appelle la phosphorylation oxydative.

Les énergies libres fournies par l'oxydation de ces composés réduits, permettent à la cellule de fabriquer par le processus de la phosphorylation oxydative à partir de :



- **Transfert d'électrons sous forme d'ions hydrure par le NAD**

Le transfert se fait sous forme d'ion hydrure (un proton et deux électrons) à partir d'un substrat (RH<sub>2</sub>) par l'enzyme déshydrogénase. RH<sub>2</sub> est oxydé et NAD<sup>+</sup> est réduit. Ceci se fait en 5 étapes :



- 1- Enz + NAD<sup>+</sup> → Enz-NAD<sup>+</sup>
- 2- Enz-NAD + RH<sub>2</sub> → H<sub>2</sub>R-Enz-NAD<sup>+</sup>
- 3- H<sub>2</sub>R-Enz-NAD<sup>+</sup> → R-Enz-NADH, H<sup>+</sup>
- 4- R-Enz-NADH, H<sup>+</sup> → Enz-NADH, H<sup>+</sup> + R
- 5- Enz-NADH, H<sup>+</sup> → Enz + NADH, H<sup>+</sup>

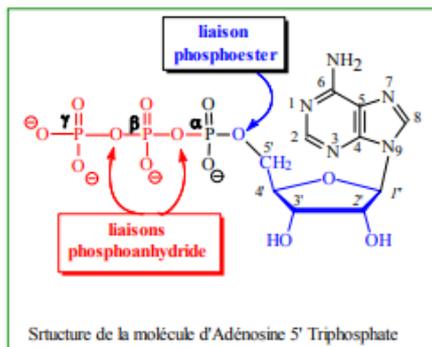
**I.6. L'ATP principale source d'énergie pour la cellule**

**I.6.1. Rôle de l'ATP dans l'organisme**

L'ATP joue un rôle central en bioénergétique : il est fréquent que l'énergie, dégagée par une réaction biologique, soit mise en réserve sous forme d'ATP et utilisée ensuite pour des processus qui absorbent de l'énergie. Le rôle de l'ATP produit lors des réactions exergoniques va permettre de fournir un certain travail cellulaire :

- Réactions de synthèse des biomolécules (par exemple synthèse des protéines, des acides gras, des glucides complexes).
- Travail mécanique (contraction musculaire). La myosine a besoin d'ATP pour se contracter (activité ATPasique). La consommation d'énergie sera fonction de l'intensité de l'effort musculaire
- Transport actif (travail osmotique qui permettra à des composés de traverser la membrane contre le gradient de concentration).
- Travail électrique : la conduction de l'influx nerveux le long d'une fibre est une onde électrique qui se traduit par un changement de perméabilité aux ions (consomme aussi l'énergie de l'ATP).

**I.6.2. Energie libre standard d'hydrolyse de l'ATP**

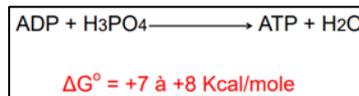


Réactions d'hydrolyse				ΔG°'
				kcal
ATP <sup>4-</sup>	+ H <sub>2</sub> O	→	ADP <sup>3-</sup> + P <sub>i</sub> + H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	- 7,3
ATP <sup>4-</sup>	+ H <sub>2</sub> O	→	AMP <sup>2-</sup> + P-P + 2H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	- 7,6
ADP <sup>3-</sup>	+ H <sub>2</sub> O	→	AMP <sup>2-</sup> + P <sub>i</sub> + H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	- 7,3
AMP <sup>2-</sup>	+ H <sub>2</sub> O	→	Ado + P <sub>i</sub> + H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	- 3,5

L'ATP, ainsi que les autres nucléotides (UTP, GTP et CTP) sont qualifiés de métabolites riches en énergie.

### I.6.3. Réactions d'oxydoréduction et formation de liaison phosphate

Lors des réactions de catabolisme, il y a création de liaisons riches en énergie. Cette dernière est emmagasinée dans l'ATP (rappelons que la synthèse d'ATP est un processus endergonique).



Lors du transfert de  $n$  électrons d'un couple redox à un autre, si la  $\Delta G^\circ$  est de  $-7$  à  $-8$  kcal/mole, l'énergie est suffisante pour la production d'ATP.

La formation de l'ATP se fait selon deux mécanismes : phosphorylation au niveau du substrat et phosphorylation couplée aux transferts d'électrons le long d'une chaîne de transporteurs d'électrons.

### I.7. Organisme hétérotrophe et organisme autotrophe

- **Les hétérotrophes** ont besoin des aliments (composés organiques complexes) qu'ils doivent dégrader pour fournir l'énergie et pour obtenir les molécules de base qui serviront à synthétiser les nouvelles biomolécules.

- **Les autotrophes** sont capables d'utiliser les composés carbonés simples pour les transformer en biomolécules (composés organiques complexes) soit en utilisant l'énergie produite par l'oxydation des minéraux, soit en utilisant l'énergie solaire (espèces photosynthétiques seulement).

### I.8. Energie d'activation

Dans toutes les réactions, il existe une **barrière d'énergie** qui doit être surmontée pour que la réaction puisse se dérouler. Elle correspond à la quantité d'énergie nécessaire pour faire passer les molécules du substrat à un état de transition ; c'est **l'énergie d'activation**. L'état de transition est l'état excité, dès lors la réaction évolue spontanément vers un état énergétique plus faible donnant un produit plus stable.

