

Cours d'Enzymologie



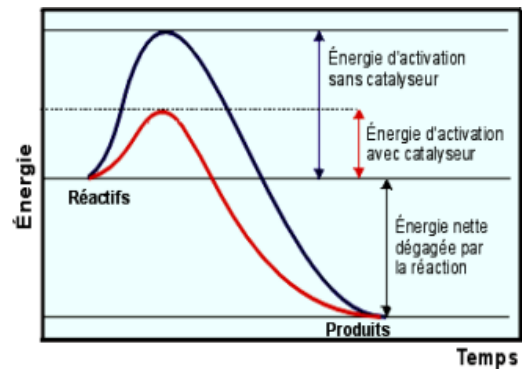
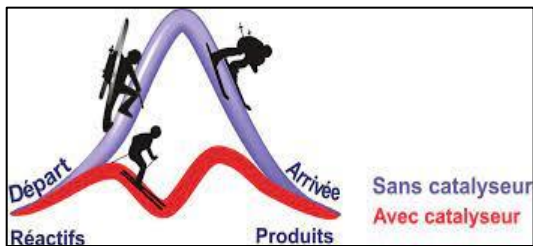
Destiné aux étudiants **L3 Génétique**

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

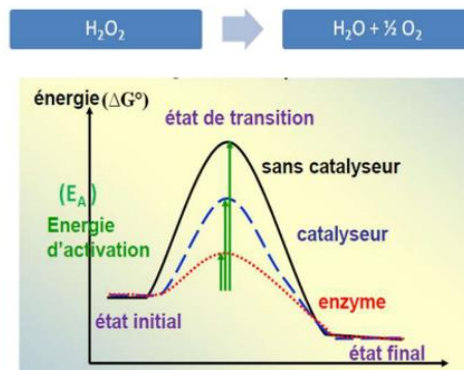
IV. Notion de catalyseur

- Élément qui provoque une réaction par sa seule présence ou par son intervention
- Substance qui augmente la vitesse d'une réaction chimique (jusqu'à plusieurs millions de fois) sans paraître participer à cette réaction
- Ne modifie pas le(s) produit(s) de la réaction
- Ne modifie pas l'état final d'équilibre de la réaction (K_{eq} sans cat = K_{eq} avec cat), il modifie les vitesses de réaction et diminue l'énergie d'activation
- N'est pas modifié lors de la réaction (on le retrouve intact à la fin de réaction, peut être réutilisé à nouveau)
- Agit à des concentrations très faibles par rapport aux réactifs
- Ne peut pas permettre une réaction impossible, donc ne catalyse que des réactions spontanément possibles.



• Catalyseurs chimiques et biologiques

Exemple de la décomposition du peroxyde d'hydrogène



L'énergie d'activation (EA) :

- En l'absence de catalyseur : **75.25 KJ/mol** (= 18000 cal/mol = 18 Kcal/mol)
- En présence d'un catalyseur chimique (platine colloïdal) : **48.9 KJ/mol** (= 12000 cal/mol = 12 Kcal/mol)
- En présence d'un catalyseur biologique (enzyme : catalase) : **8.36 KJ/mol** (=6000 cal/mol = 6 Kcal/mol).

V. Les enzymes

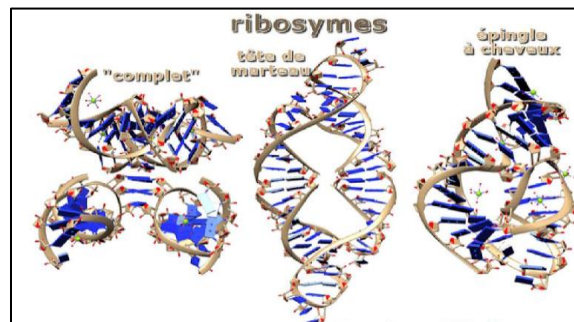
V.1. Présentation

Environ, un quart des gènes du génome humain code pour des enzymes, ce qui témoigne de leur importance pour la vie.

Les enzymes sont des biomolécules de nature protéique (associées éventuellement à des cofacteurs de petite taille). **Catalyseurs** de réactions biochimiques, elles ont un pouvoir catalytique élevé (accélèrent les réactions métaboliques d'un organisme vivant avec un pouvoir catalytique de 10^6 à 10^{12} fois supérieur aux réactions spontanées), douées de spécificité et peuvent être régulées.

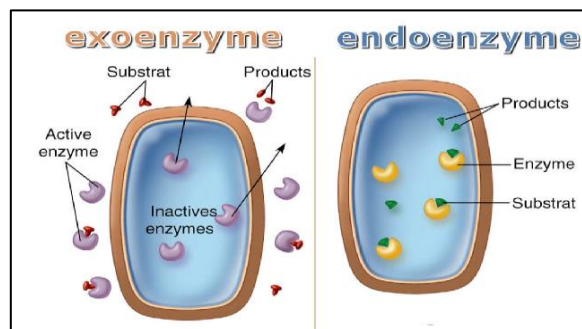
Exemple : L'hydrolyse de l'amidon

- Rapide à 40°C avec l'amylase salivaire
 - Lente à 40°C avec H⁺ comme catalyseur
 - Rapide à 100°C avec H⁺ comme catalyseur
- **Cas particulier : les ribozymes** (ARN) ayant un pouvoir catalytique élevé et doués de spécificité (**Devoir maison**).



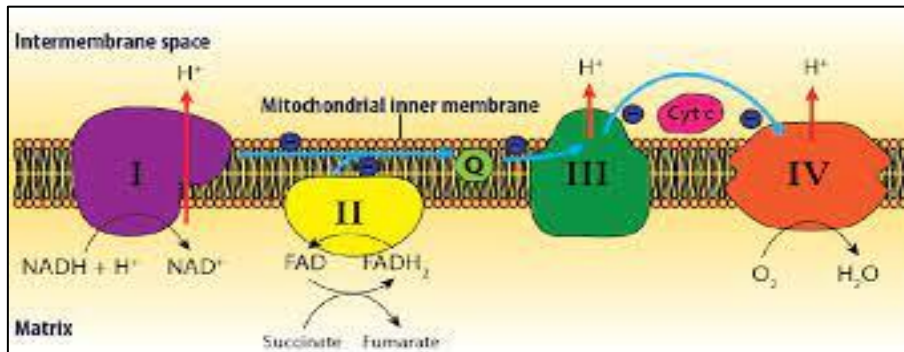
V.2. Localisation

- **Enzymes extracellulaires (exoenzymes)** : synthétisées à l'intérieur de la cellule, puis sécrétées dans l'espace extracellulaire.
- **Enzymes intracellulaires (endoenzymes)** : synthétisées et utilisées entièrement à l'intérieur de la cellule où elles sont généralement liées à des particules subcellulaires ou membranes intracellulaires rendant leur extraction plus difficile.

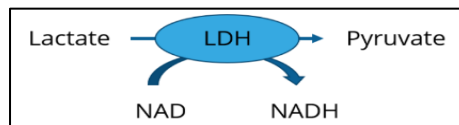


Les enzymes peuvent être réparties sur des organites cellulaires différents. Exemples :

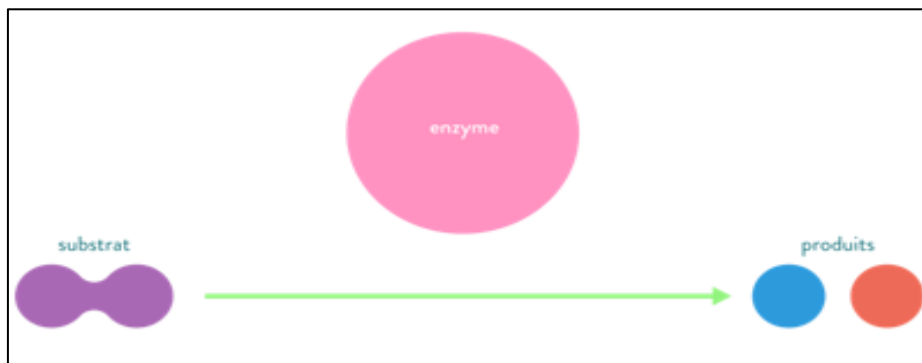
- **La cytochrome C oxydase** dans la membrane interne mitochondriale. C'est une oxydoréductase membranaire qui catalyse la réaction de réduction du dioxygène



- **La lactate déshydrogénase** dans la fraction cytoplasmique soluble : catalyse la conversion du pyruvate en lactate et *vice-versa*

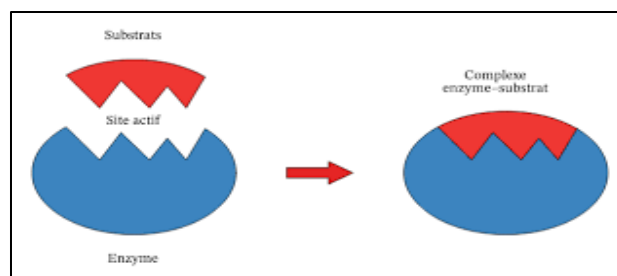


V.3. Substrat et produit



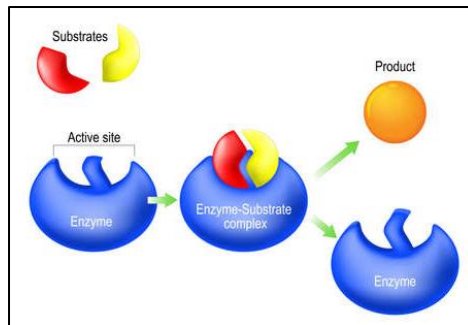
- Substrat

Le substrat est la molécule qui entre dans une réaction enzymatique pour y être transformée grâce à l'action catalytique d'une enzyme.

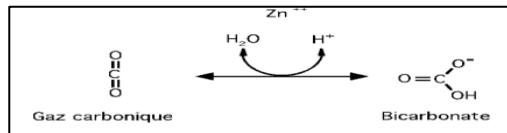


- Produit

Le produit est la molécule qui apparaît au cours d'une réaction catalysée par une enzyme. C'est donc la nouvelle molécule qui résulte de la transformation d'un substrat.



Exemple : l'anhydrase carbonique



L'anhydrase carbonique est une enzyme présente dans toutes nos cellules. C'est une protéine d'une masse de 29000 daltons, constituée d'une chaîne de 264 acides aminés. La présence d'un atome de Zinc est nécessaire à son activité. Elle catalyse la réaction d'addition d'une molécule d'eau sur une molécule de gaz carbonique pour donner l'acide carbonique qui se dissocie au pH physiologique en un ion bicarbonate et un proton. Cette réaction est réversible et aboutit à un état d'équilibre que la catalyse enzymatique ne change pas.

De droite à gauche, sur le schéma, le bicarbonate, réassocié à un proton, va perdre avec l'aide catalytique de l'enzyme, une molécule d'eau pour donner l'anhydride ou gaz carbonique. Dans ce sens, on appelle substrat le bicarbonate et produit le gaz carbonique

V.4. Structure

Les enzymes sont des protéines globulaires de poids moléculaire élevé (de 12 à 1000 KDa)

Exemples : la pyruvate déshydrogénase est un complexe multienzymatique de 4600000 Da. La catalase fait 232 KDa.

V.4.1. Structure des protéines

- La structure primaire

Les enzymes sont constituées de plusieurs acides α -aminés de la série L unis entre eux par une liaison formée par condensation entre le groupement carboxyle d'un acide aminé et le groupement amine d'un autre acide aminé afin de former une liaison amide. L'ordre, dans lequel sont arrangés les acides aminés, constitue ce que l'on appelle la structure primaire des enzymes.

- La structure secondaire

Les protéines vont avoir tendance à se replier sur elles-mêmes afin de former des arrangements secondaires principalement en hélices α et en feuillets β ; cette structure est stabilisée grâce à la génération de liaisons hydrogènes.

- **La structure tertiaire**

L'arrangement de ces structures secondaires les unes par rapport aux autres forme une structure tertiaire qui, elle, sera stabilisée par des ponts disulfures

- **La structure quaternaire**

Une structure quaternaire peut même être décrite pour les très grosses enzymes. Cette structure tridimensionnelle de l'enzyme lui donnera sa spécificité permettant à celle-ci de reconnaître un substrat en particulier *via* une région distincte de l'enzyme, appelée le site actif.

V.4.2. Structure quaternaire et allostérie

Il existe deux types d'enzymes :

- **Enzyme monomérique** : enzyme comportant une seule unité appelée monomère ou protomère. Exemples : la trypsine, la chymotrypsine, la papaine
- **Enzyme polymérique** : enzyme comportant plusieurs unités dont l'assemblage constitue la structure quaternaire.
 - **Enzyme homopolymérique** : constituée de monomères identiques
 - **Enzyme hétéropolymérique** : constituée de monomères présentant des différences minimales dans la structure mais une même activité catalytique : **les isoenzymes**

Exemples d'enzymes polymériques :

- Dimère (deux sous-unités) : la phosphatase alcaline
- Tétramère (quatre sous-unités) : l'hexokinase
- Hexamère (six sous-unités) : l'aldolase

Remarque : Chaque sous-unité des enzymes polymériques porte un site actif.

- **Conséquences de la séquence de la structure primaire**

Les enzymes vont avoir des structures différentes selon :

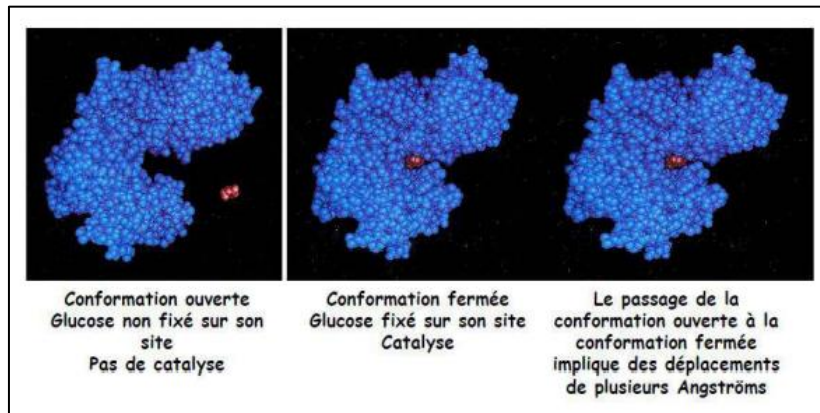
- La séquence en acides aminés
- Le nombre des chaînes peptidiques qu'ils comportent (les enzymes à une seule chaîne : RNase, trypsine ..., les enzymes à plusieurs chaînes : oligomériques : LDH, isocitrate déshydrogénase, ...)

- **Conséquences de la présence d'une configuration (conformation) spatiale**

La sensibilité aux différents agents influençant la structure des protéines. L'altération (ou dénaturation) de cette structure a pour conséquence l'inactivation de la macromolécule et retentit sur les propriétés catalytiques de l'enzyme.

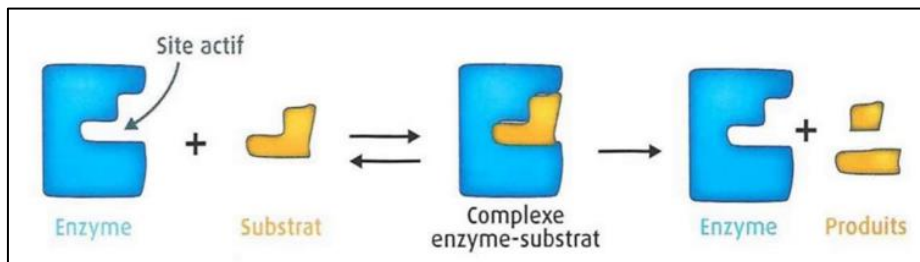
- **Conséquences de la flexibilité de la configuration spatiale**

Suite au rapprochement enzyme – substrat, les acides aminés se rapprochent, ce qui influe sur la fixation du substrat et l’acte catalytique.



V.4.3. Le site actif

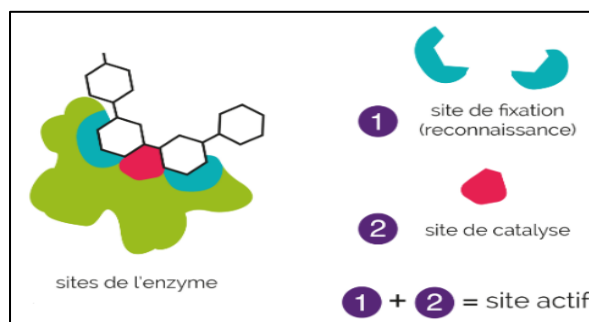
Pour que l’enzyme fonctionne, elle doit se combiner avec son (ou ses) substrat(s). La fonction des enzymes est liée à la présence dans leur structure d’un site particulier appelé le site actif.



Le site actif est une poche ou crevasse de la structure tertiaire de la protéine, capable de fixer spécifiquement le substrat, et contenant les groupements catalytiques (liaisons chimiques faibles) responsables de la transformation de ce dernier en produit. Il s’agit d’une zone privilégiée de l’enzyme, située dans la zone hydrophobe de la protéine (fixer le substrat dans un environnement hydrophobe). Il est de petite taille relativement au volume de la protéine.

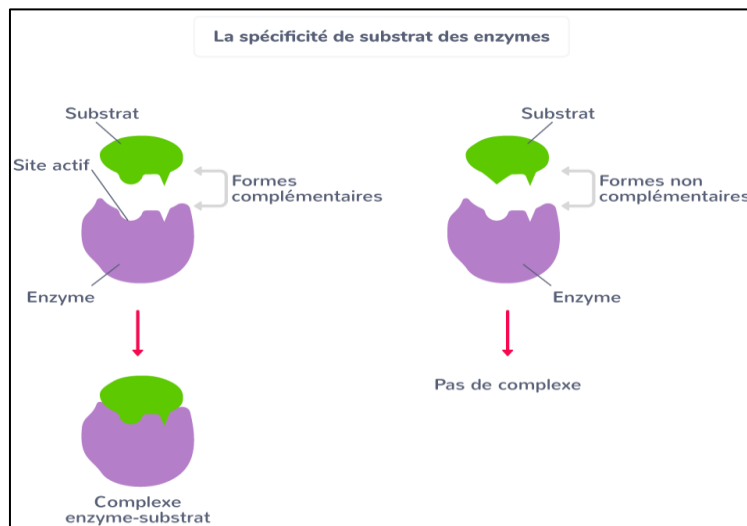
Le site actif comprend :

- Un site de fixation (ou de liaison ou de reconnaissance)
- Un site catalytique



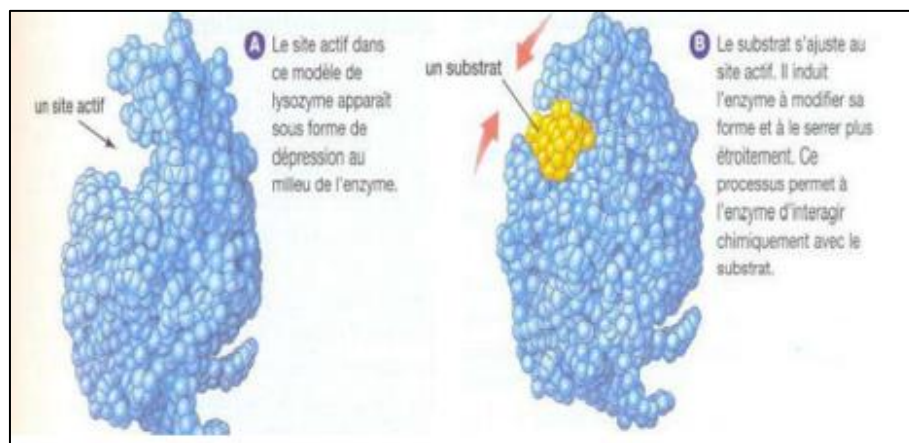
Le site catalytique est responsable de la transformation du substrat en produit. C'est une zone de l'enzyme (représentant environ 5% de la surface totale de l'enzyme) au niveau de laquelle le substrat est transformé. Il possède une structure complémentaire de celle du substrat. Deux à dix aminoacides seulement, regroupés dans une zone hydrophobe interne de la molécule, participent à l'activité catalytique. Les plus rencontrés sont His, Ser, Cys, Lys, Tyr. Ce sont des acides aminés polaires dotés de doublets électroniques libres, possédant ainsi une activité nucléophile (N, O, S ...)

Le site de fixation ou de reconnaissance est constitué d'une séquence d'acides aminés. Il reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique à l'enzyme. Ce site aide donc l'enzyme à identifier son substrat. L'enzyme peut agir sur n'importe quel assemblage atomique ressemblant à son substrat.



En 1958, Koshland modifie le principe clé serrure à celui de l'ajustement induit :

- Le site actif s'ajuste en change de forme avec le substrat
- Un enzyme peut accepter plusieurs substrats légèrement différents. Exemple d'un gant qui s'adapte à plusieurs mains



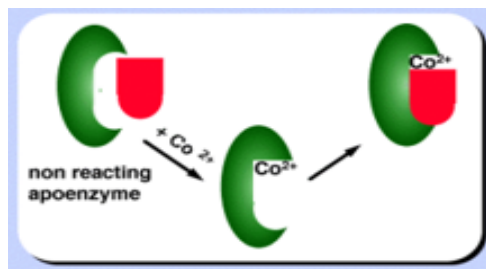
V.5. Cofacteurs

Un cofacteur est un corps chimique non protéique, indispensable à certains enzymes pour catalyser une réaction. Il s'agit d'une molécule d'assistance aidant aux transformations biochimiques. Le cofacteur intervient dans la réaction enzymatique, mais n'est pas transformé définitivement à la fin de cette réaction. Son rôle est de :

- Transporter ou compléter un substrat
- Accepter un produit
- Participer à la structure de l'enzyme.

Le cofacteur peut être :

- **Inorganique : Un ion métallique** : Zn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} ... L'ion associé à la partie protéique forme **la métallo-enzyme**.
- **Organique** :
 - Une **petite molécule minérale** : l'eau (H_2O)
 - **Molécules minérales plus complexes** : **coenzyme**



La protéine enzymatique reconnaît spécifiquement les cofacteurs dont elle a besoin.

• Coenzymes

Les coenzymes sont des molécules biologiques. On en distingue deux types :

- **Les groupements prosthétiques** formant des liaisons covalentes avec le substrat (FAD, cytochromes, coenzyme Q ...). Ces coenzymes sont appelés coenzymes liés parce qu'ils ne se dissocient pas de l'enzyme
- **Les cosubstrats** formant des liaisons non covalentes avec le substrat (NAD, ATP ...). Ces coenzymes sont appelés coenzymes libres parce qu'ils se dissocient de l'enzyme à chaque réaction catalysée. Plusieurs de ces molécules ne peuvent pas être synthétisées par la cellule et doivent être apportées par l'alimentation : ce sont les vitamines.

Pour les détails, voir chapitre coenzymes plus loin.

VI. Catégories

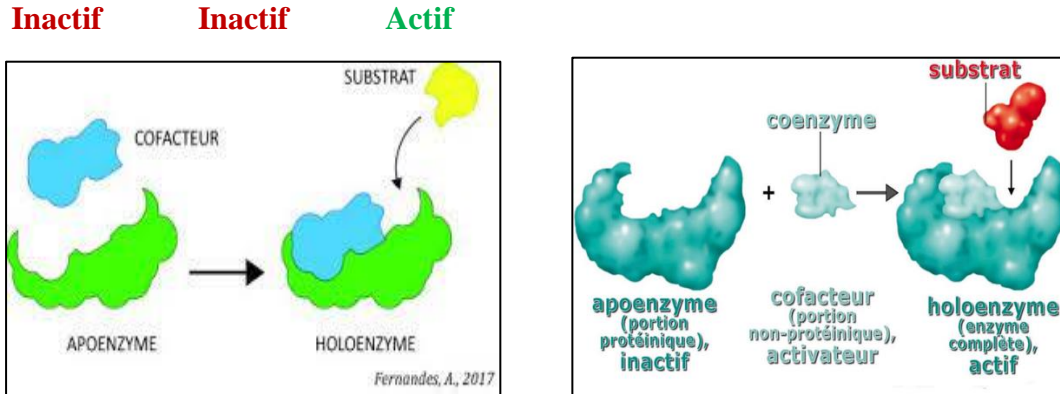
Du point de vue de leur structure, on divise les enzymes en deux catégories :

- **Enzymes purement protéiques** : Site de fixation = AA, Site catalytique = AA

- **Enzymes avec cofacteur (Holoenzyme) :**

- La partie protéique est appelée **apoenzyme** (thermolabile).
- La partie non protéique est appelée **cofacteur ou coenzyme** (thermostable)

Apoenzyme + Coenzyme = Holoenzyme



L'apoenzyme définit :

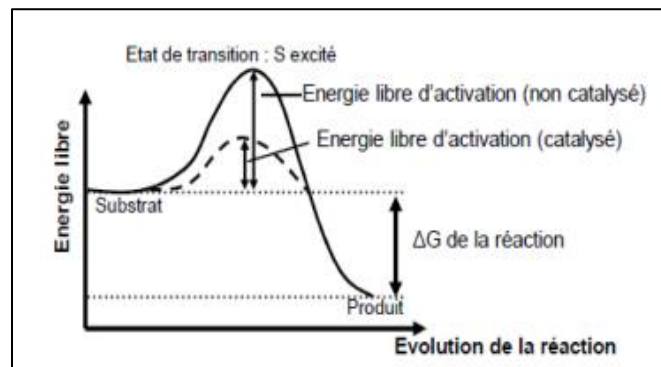
- La configuration spatiale du centre actif
- Le type de réaction réalisée.

VII. Propriétés des enzymes

VII.1. Propriétés en tant que catalyseurs

Les enzymes sont plus efficaces que les catalyseurs chimiques. L'enzyme :

- Ne modifie pas la nature de la réaction, ni son équilibre, ni son état thermodynamique
- Ne modifie pas la variation d'énergie libre (ΔG_0)
- Abaisse l'énergie libre d'activation du substrat



- Accélère les réactions chimiques dans les systèmes biologiques d'un facteur 10^6 au minimum : la vitesse de la réaction est plus grande.
- Pour une même vitesse de réaction, permet une baisse de température.
- Permet le gain d'une partie de l'énergie qui pourrait être dépensée lors d'une réaction non enzymatique.
- Agit à concentration très faible

- Ne figure pas quantitativement parmi les produits et reste intacte après la réaction
- Chaque molécule peut catalyser un nombre illimité de réaction
- Ne peut pas rendre possible une réaction endergonique. Ne catalyse que les réactions thermodynamiquement possibles.
- Contribue à la régulation du métabolisme

VII.2. Spécificité

Les enzymes sont des catalyseurs spécifiques, c'est-à-dire qu'en fonction de leur nature, elles n'agissent que sur des composés moléculaires bien précis.

Par exemple : les amylases n'agissent que sur les amidons, les protéases n'agissent que sur des protéines.

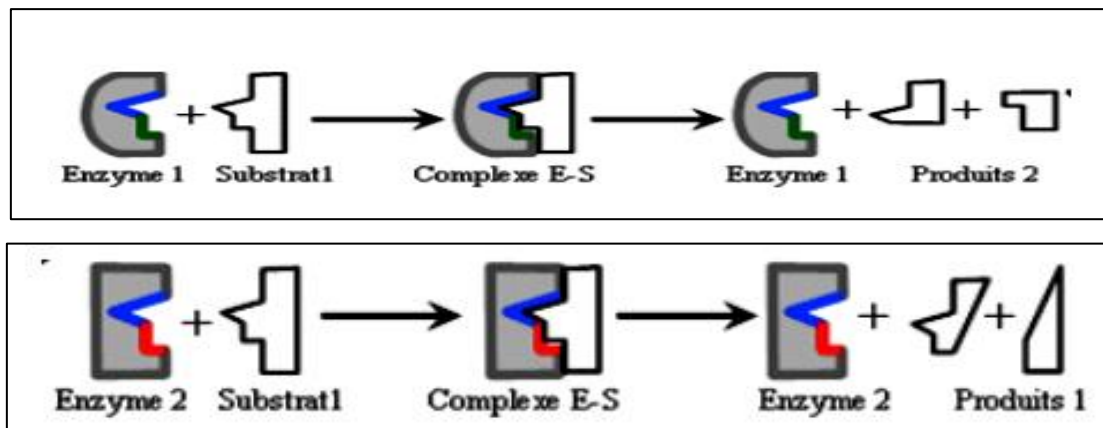
On distingue différents aspects de la spécificité :

- Spécificité de la réaction
- Spécificité de substrat
- Stéréospécificité de substrat et de réaction

VII.2.1. Spécificité de la réaction

Pour un même substrat donné, une enzyme ne catalyse qu'une seule réaction parmi l'ensemble de celles qui sont possibles.

Une déshydrogénase catalyse la réaction de déshydrogénation, une hydrolase catalyse une réaction d'hydrolyse.

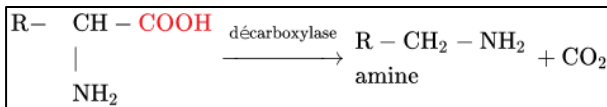


Cependant, il existe des exceptions apparentes à cette règle : certaines enzymes peuvent catalyser plusieurs types de réactions. Exemples : la trypsine possède une activité protéolytique et une activité estérasique, mais ces réactions font appel à un mécanisme identique (hydrolyse d'une liaison).

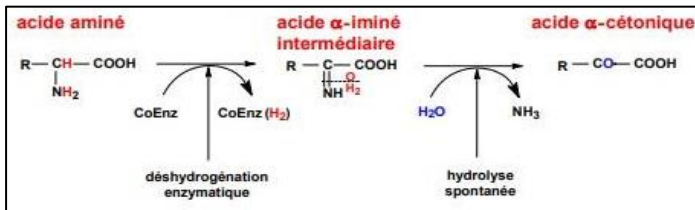
Exemple du métabolisme des acides aminés

L'acide aminé peut être :

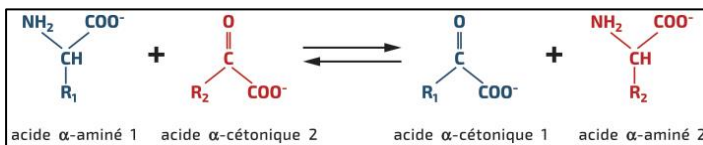
- Décarboxylé par une décarboxylase



- Désaminé et oxydé par une aminoacide oxydase

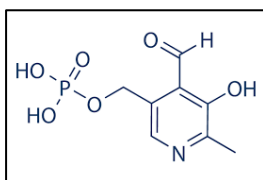


- Transaminé par une transaminase



Pour toutes ces enzymes :

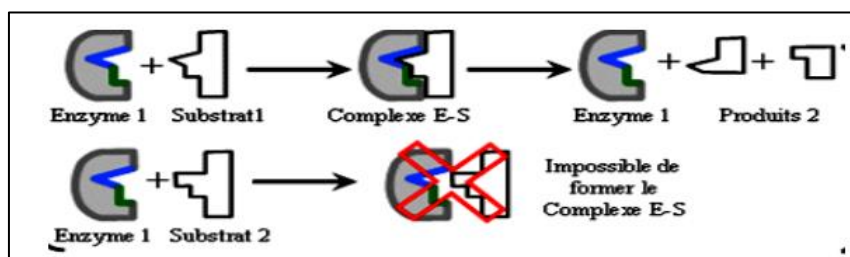
- Le coenzyme est le même : phosphate du pyridoxal



- Les apoenzymes sont différentes
- La spécificité de la réaction est assurée par l'apoenzyme.

VII.2.2. Spécificité de substrat

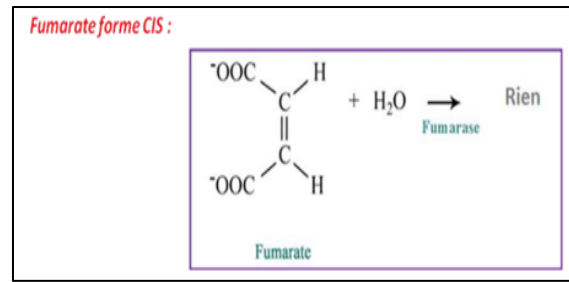
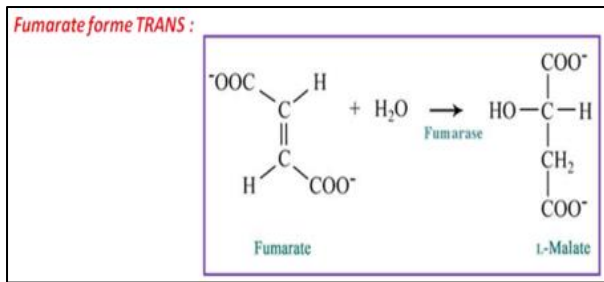
C'est la « reconnaissance » du substrat par l'architecture spatiale de l'enzyme. Chaque enzyme possède un substrat spécifique privilégié qui porte un groupe d'atomes sur lesquels a lieu la réaction. Cette spécificité est plus ou moins étroite et chaque enzyme accepte comme substrat des molécules voisines du substrat habituel, avec pour chacune une cinétique particulière.



La spécificité de substrat peut être :

- **Large** : l'enzyme agit sur beaucoup de types de composés
- **Étroite** : l'enzyme agit sur un seul composé.

De la spécificité la plus large vers la plus étroite, on rencontre :

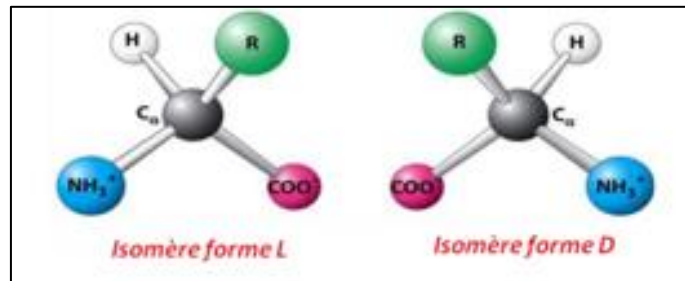


- **Stéréospécificité liée aux forme D et L**

Beaucoup d'enzymes n'acceptent que des substrats d'une seule forme (D ou L) :

- Forme L pour les enzymes des acides aminés
- Forme D pour les enzymes des glucides

La trypsine, la chymotrypsine et la pepsine n'acceptent comme substrat que les polymères d'acides aminés de la série L.



- **Stéréospécificité liée aux conformations α ou β des liaisons osidiques**

Les enzymes du métabolisme des glucides (osidases) sont le plus souvent stéréospécifiques pour les conformations α et β.

Exemples des glucosidases et des galactosidases

- **Les α-glucosidases :** les amylases salivaires et pancréatiques hydrolysent les polymères de glucose liés par des liaisons α (1 ➔ 4)
- **Les β-glucosidases :** interviennent dans de nombreuses réactions qui font intervenir les β galactosides comme substrat. Elles peuvent être bactériennes et hydrolysent les polymères de glucose liés par des liaisons β (1 ➔ 4) : cellulose

