



# ENZYMOLOGIE I



# Généralités



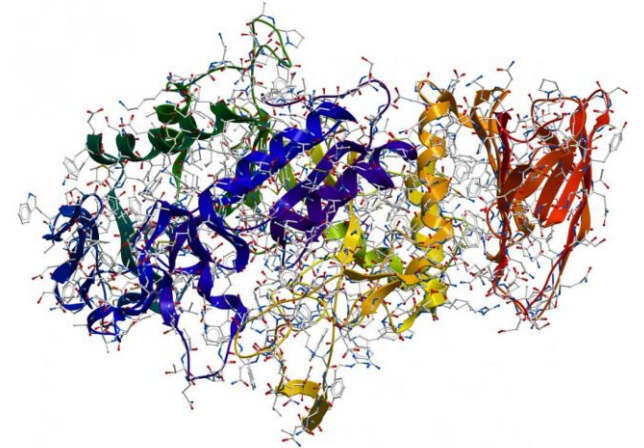
# Mais qu'est-ce qu'une enzyme?

Une enzyme c'est le plus souvent une **protéine**, qui est **codée génétiquement**.

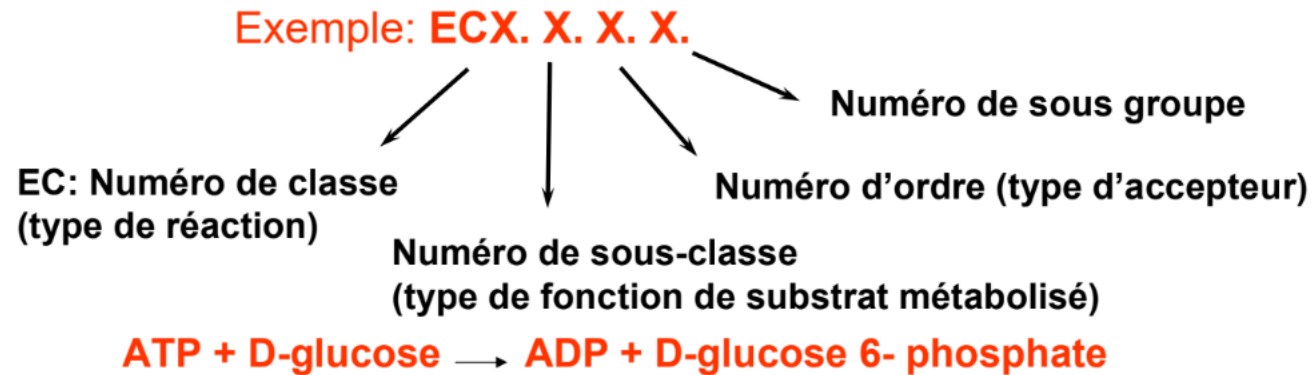
Mais il existe aussi des enzymes sous forme de **ribozyme** (des ARN).

Généralement, une enzyme porte le nom :

**du type de réaction catalysée + suffixe « ase »**



# Nomenclature



**ATP: glucose phosphotransférase: EC2.7.1.1 (hexokinase)**

2: numéro de classe: transférase

7: sous classe: phosphotransférase

1: ordre: phosphotransférase avec un groupe hydroxyl comme accepteur

1: D-glucose comme accepteur du groupe phosphate



# Et quels sont ses rôles?

Elle ont plusieurs **rôles** et **caractéristiques** dans les réactions chimiques :

- elles **augmentent** la vitesses des réactions
- elles participent **en faible quantité** aux réactions
- elles **ne modifient pas** le produit de la réaction
- elles se retrouvent **toujours** dans leur état **initial** en fin de réaction



# Les intervenants dans les réactions

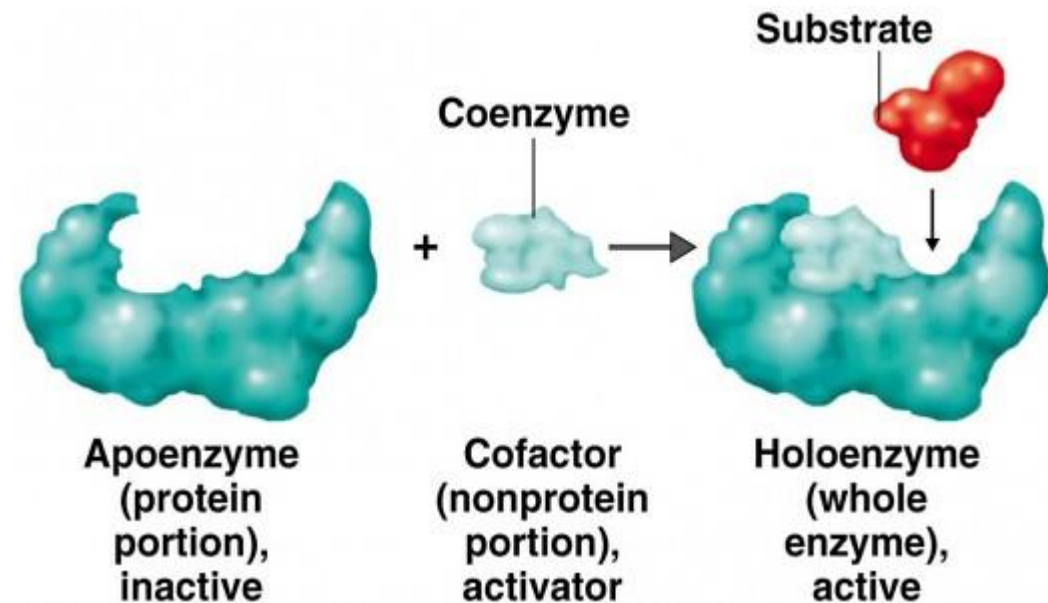
- Le *substrat*, c'est la molécule qui va **entrer** dans la réaction et subir des transformations pour devenir un :
- Le *produit*, c'est la molécule qui sera **produite** au cours de la réaction

**Pour un substrat donné entrant dans une réaction chimique, on obtiendra toujours le même produit.**

- Les *Cofacteurs*, ce sont des composés chimiques nécessaires au déroulement de **certaines** réactions enzymatiques.

Seulement **certaines** enzymes nécessitent la présence de cofacteurs pour fonctionner. Ces enzymes peuvent alors se retrouver sous deux formes :

- **APOENZYME** = partie protéique de l'enzyme ( forme *inactive* )
- **HOLOENZYME** = apoenzyme associée à son cofacteur ( forme *active* et fonctionnelle )



# Les enzymes sont des catalyseurs biologiques

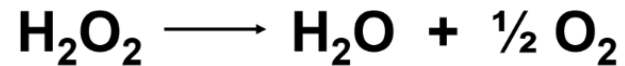
## *Règles de la catalyse :*

- Un catalyseur ***augmente la vitesse*** de la réaction chimique
- Un catalyseur ne provoque ***jamais*** la réaction chimique
- Un catalyseur ***ne rend jamais possible*** une réaction étant ***thermodynamiquement impossible*** ( $\Delta G > 0$ )
- Un catalyseur est présent ***en petite quantité*** et participe à un ***grand nombre*** de réactions
- Un catalyseur retrouve toujours ***sa forme d'origine*** en fin de réaction
- Un catalyseur ***ne modifie pas*** l'équilibre d'une réaction réversible



# Exemple de catalyse enzymatique

Ici, sans catalyseur, l'énergie d'activation est **très haute**. Avec un catalyseur **chimique**, cette énergie est **moins haute**. Et avec une **enzyme**, elle baisse encore ce qui permet **d'accélérer** la réaction.

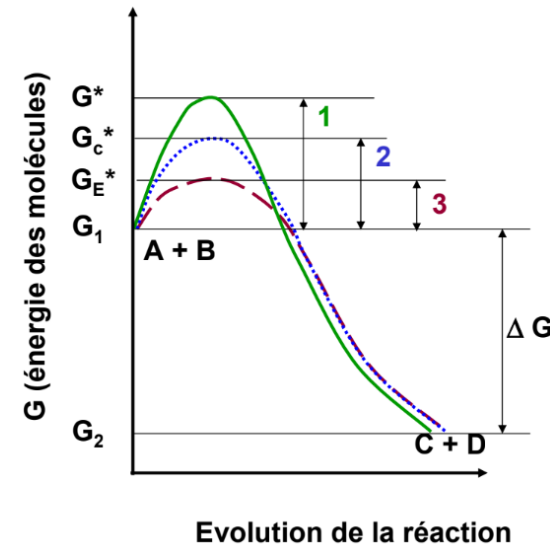
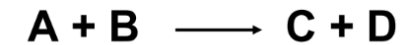


Sans catalyseur →  $E_a = 18 \text{ Kcal/mole}$

Platine colloïdal →  $E_a = 12 \text{ Kcal/mole}$

*Catalase* →  $E_a = 2 \text{ Kcal/mole}$

Une molécule de *catalase* permet la dégradation de  $5.10^6$  molécules de  $\text{H}_2\text{O}_2$  par minute



1 : Énergie minimale requise des molécules pour une **réaction non catalysée**

2 : Énergie minimale requise des molécules pour une réaction catalysée par un **catalyseur**

3 : Énergie minimale requise des molécules pour une réaction catalysée par **une Enzyme**



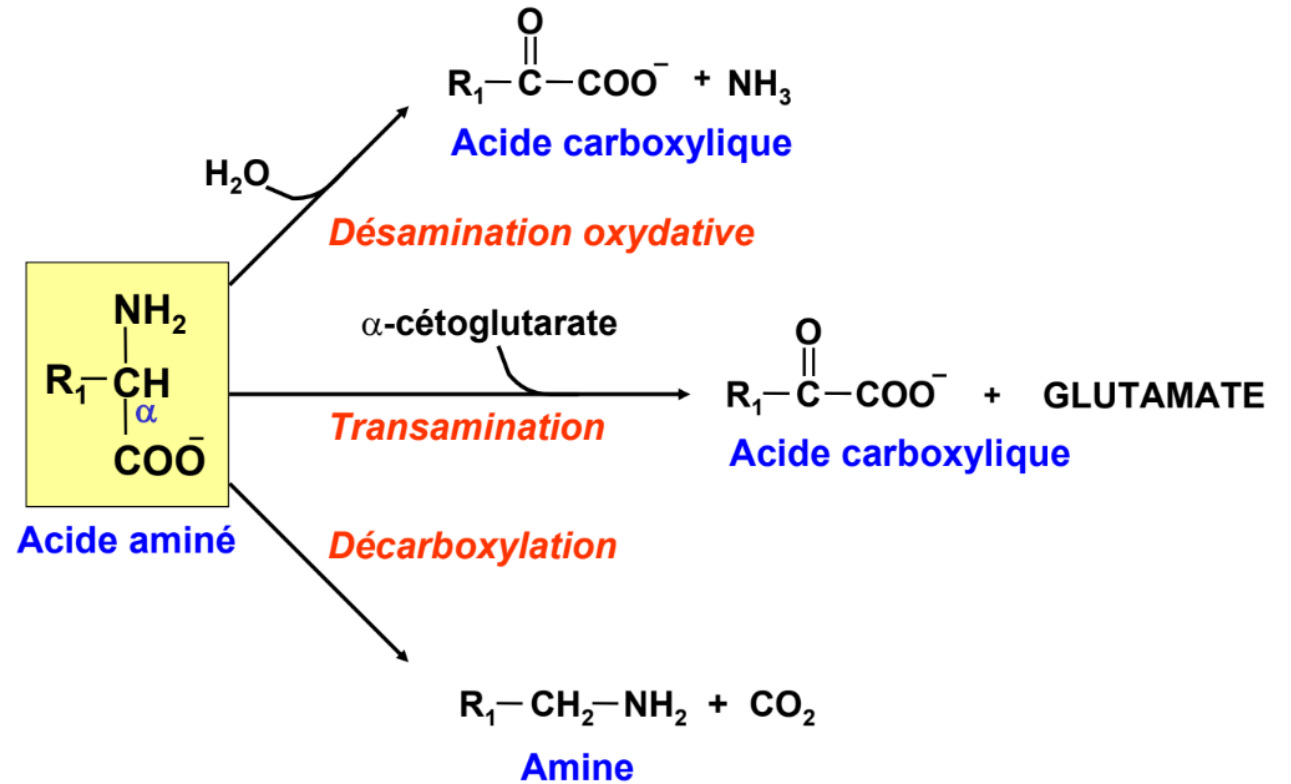
- A) Une enzyme ralentit la vitesse d'une réaction en augmentant l'énergie d'activation
- B) Une enzyme modifie le produit de la réaction
- C) L'apoenzyme correspond à la partie protéique de l'enzyme associée au cofacteur
- D) Les enzymes participent en grandes quantités aux réactions
- E) Tout est faux

# Correction

- A) FAUX : Une enzyme ~~ralentit~~ **augmente** la vitesse d'une réaction en ~~augmentant~~ **abaissant** l'énergie d'activation
- B) FAUX : Une enzyme ne modifie **PAS** le produit de la réaction
- C) FAUX : L'apoenzyme correspond à la partie protéique de l'enzyme ~~associée au~~ **cofacteur**
- D) FAUX : Les enzymes participent en ~~grandes~~ **faibles** quantités aux réactions
- E) VRAI : Tout est faux

# Les enzymes sont spécifiques

*La spécificité de réaction :*

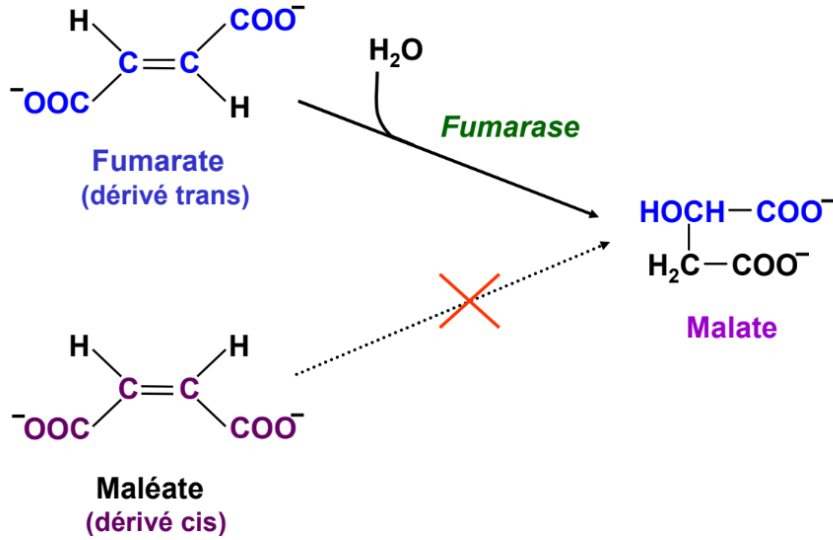


# Spécificité de substrat

## Spécificité étroite ou absolue :

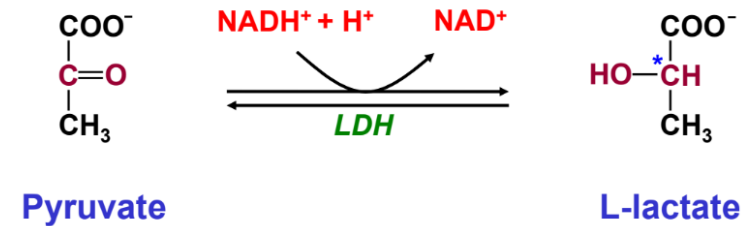
### Spécificité étroite ou absolue

1 - Vis à vis d'un seul isomère



### Spécificité étroite ou absolue

2 - Vis à vis d'une seule forme optiquement active



LDH : Lactate Déshydrogénase

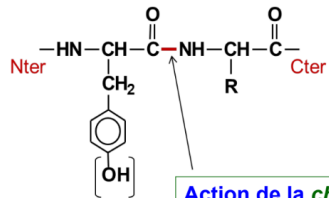
# Spécificité de substrat

## Spécificité de liaison :

### Spécificité de liaison / groupement

Spécificité où seule une liaison, placée dans un environnement défini, est impliquée

Ce n'est pas la liaison seule qui est reconnue mais aussi l'environnement de la liaison

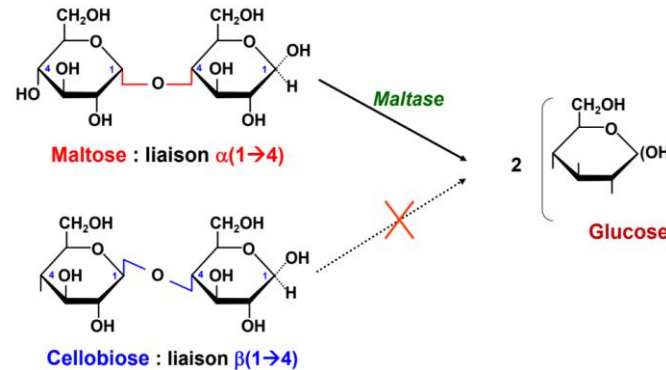


Action de la *chymotrypsine* sur la liaison peptidique à droite des acides aminés (Phé et Tyr) de la **série L**

## Spécificité de groupement :

### Spécificité de groupements

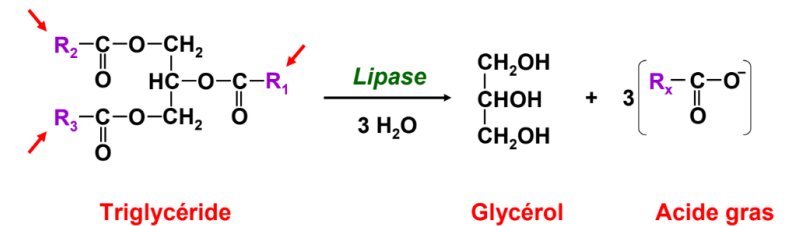
Vis à vis d'un ou plusieurs groupements



## Spécificité moins stricte :

### Spécificité moins stricte ou large

Vis à vis d'un groupement fonctionnel



Action de l'enzyme quelque soit la nature de **R**

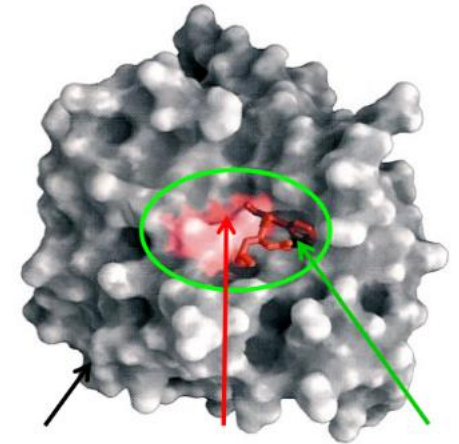
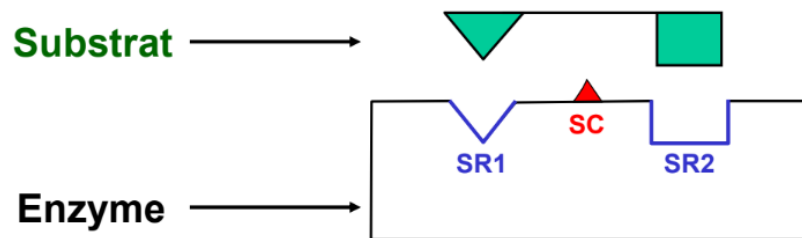


# Le site actif

- L'interaction entre l'enzyme et le substrat a lieu au niveau du **site actif** de l'enzyme et se fait par *complémentarité*.

Le site actif se compose de 2 parties :

- Site de **reconnaissance / fixation** : reconnaît le substrat et forme le complexe enzyme-substrat [ES]
- Site **catalytique** : transforme le substrat en produit



# Composition en acide aminés du Site Actif

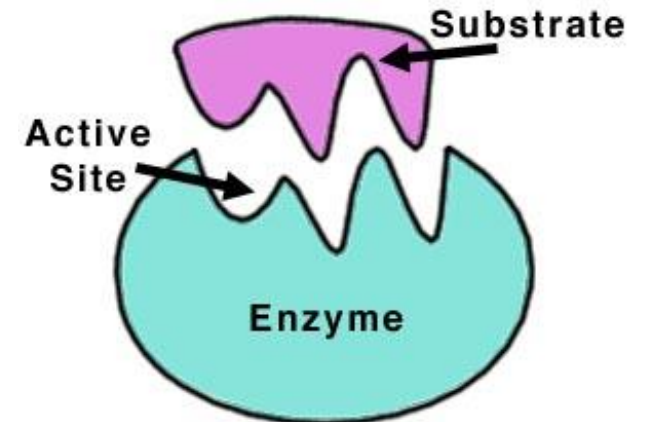
AA indifférent	<ul style="list-style-type: none"><li>*Nombre <i>variable</i></li><li>*Situé en <i>Nterm</i> et <i>Cterm</i></li><li>*N'intervient <b>pas</b> dans la réaction</li></ul>
AA de conformation	<ul style="list-style-type: none"><li>*<i>Stabilise</i> l'enzyme sous sa forme réactionnelle</li><li>*N'intervient <b>pas</b> dans la réaction</li></ul>
AA auxiliaire	<ul style="list-style-type: none"><li>*Assure la <i>flexibilité</i> de l'enzyme</li><li>*<i>Proche</i> du site actif</li><li>*<b>Pas</b> d'interaction avec le substrat</li><li>*Rôle <i>essentiel</i> dans le fonctionnement de l'enzyme</li></ul>
AA de contact	<ul style="list-style-type: none"><li>*Interaction <b>directe</b> avec le substrat</li><li>*<i>Pas forcément proches</i> dans la séquence protéique</li><li>*<b>Faible</b> nombre (&lt;10 : Glu, Asp, His, Ser, Tyr, Thr, Cys, Lys, Arg)</li></ul>

# Généralités sur le site actif

Le site actif occupe une **faible** part du volume total de l'enzyme et seul un ***nombre restreint*** de résidus d'acides aminés sont impliqués dans sa constitution.

Il correspond à une crevasse à la **périphérie** de l'enzyme, formée par les chaînes latérales des acides aminés ***de contact***.

Ces acides aminés de contact ne sont ***pas forcément proches*** dans la structure *primaire* mais le sont dans la structure *tridimensionnelle*.



# Complexe enzyme-substrat

Le complexe Enzyme-Substrat correspond à l'interaction entre l'Enzyme et le substrat. Ces interactions sont de **faibles niveaux énergétiques**

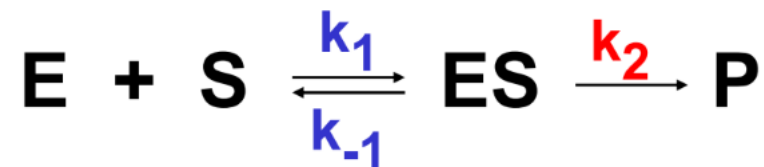
Ce complexe a 2 destins possibles :

- **Se dissocier** en Enzyme et substrat
- **Se transformer** en produit

Le complexe enzyme-substrat ES sera le plus **spécifique** possible grâce à des arrangements au niveau :

- substrat, dans son **état d'activation**
- l'enzyme, dans son **état de transition**

Dans l'état de transition, les groupements du site actif ne sont pas complémentaires au substrat libre, mais à une conformation **enzyme-substrat** contrainte.

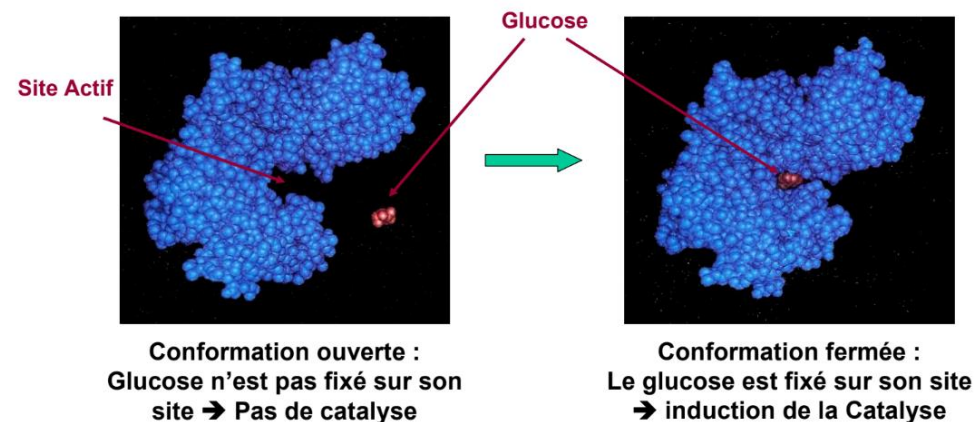


# Exemple de l'Hexokinase

La fixation du glucose permet des *modifications conformationnelles* nécessaires au déclenchement de la catalyse.

Cette association permet le passage d'une conformation *ouverte* à *fermée* de l'enzyme.

L'**hexokinase** catalyse la réaction :





- A) Le site actif est composé d'un site de reconnaissance et d'un site de fixation
- B) Le complexe enzyme-substrat se transforme obligatoirement en produit
- C) Les acides aminés de contact sont proches dans la structure linéaire mais éloignés dans l'espace
- D) Le site actif occupe une faible part du volume de l'enzyme
- E) Tout est faux



# Correction

- A) FAUX : Le site actif est composé d'un site de reconnaissance ~~et d'un site de fixation~~ et d'un site catalytique, le site de fixation = site de reconnaissance
- B) FAUX : Le complexe enzyme-substrat se transforme ~~obligatoirement~~ en produit, il peut aussi se dissocier en enzyme et substrat
- C) FAUX : Les acides aminés de contact sont ~~proches dans la structure linéaire~~ mais éloignés dans l'espace, c'est l'inverse.
- D) VRAI : Le site actif occupe une faible part du volume de l'enzyme
- E) FAUX : Tout est faux

# Les Coenzymes

Les coenzymes sont des cofacteurs **indispensables** à la catalyse enzymatique. Si leur synthèse organique à partir d'intermédiaires métaboliques n'est pas possible, elles sont apportées via l'alimentation par les **vitamines**

Ces coenzymes interviennent dans la réaction pour :

- *Transporter* un intermédiaire réactionnel
- *Accepter* un produit de la réaction



Vitamine	Nom	Coenzyme	Rôles
Vitamine B3	Nicotinamide	NAD/NADP	Métabolisme glucidique/lipidique/protéique
Vitamine B5	Acide pantothénique	Coenzyme A	Métabolisme des acides gras constituant de CoenzymeA
Vitamine B6	Pyridoxine	Pyridoxal phosphate	Métabolisme des acides aminés
Vitamine B2	Riboflavine	FMN/FAD	Métabolisme énergétique/des acides aminés
Vitamine B1	Thiamine	Thiamine Pyrophosphate	Assimilation des glucides Métabolisme des acides aminés
Vitamine H	Biotine	Biotine	Métabolisme des acides aminés/ des corps gras/ Néoglucogénèse

# Types de Coenzymes

## STOECHIOMETRIQUE/CO-SUBSTRAT :

- Liaison ***faible*** avec l'apoenzyme
- La liaison est ***renouvelée*** à chaque réaction
- Concentration voisine à celle du ***substrat***
- Rôle de ***transporteur***
- ***NAD, NADP, COA-SH***

## CATALYTIQUE/PROSTHETIQUE :

- Liaison ***forte*** avec l'apoenzyme
- La liaison est ***définitive, irréversible***, ne se dissocie jamais
- Concentration voisine à celle de ***l'enzyme***
- Rôle ***d'activateur***
- ***FAD, TPP, Pyridoxal Phosphate, Acide Lipoïque***

Il existe différents types de coenzymes selon les réactions catalysées: coenzyme *d'oxydo-réduction*, coenzyme de transfert de groupement.

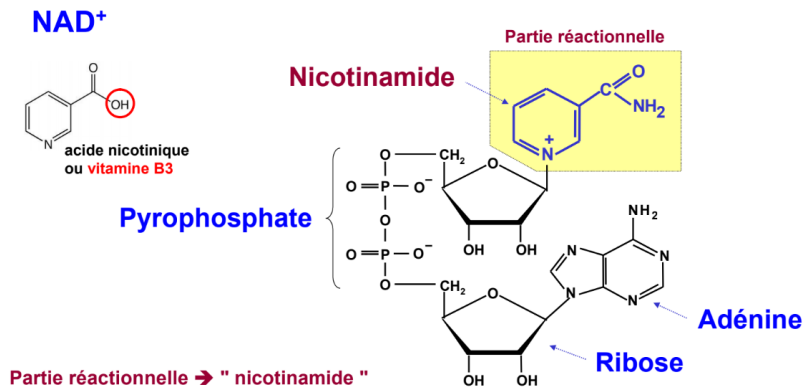
# Coenzyme d'oxydo-réduction

## Le NAD:

Coenzyme transportant *2e- et un H+*

Coenzyme de réactions **d'oxydation** (voies *cataboliques mitochondriale*)

Coenzyme provenant de la **vitamine B3**

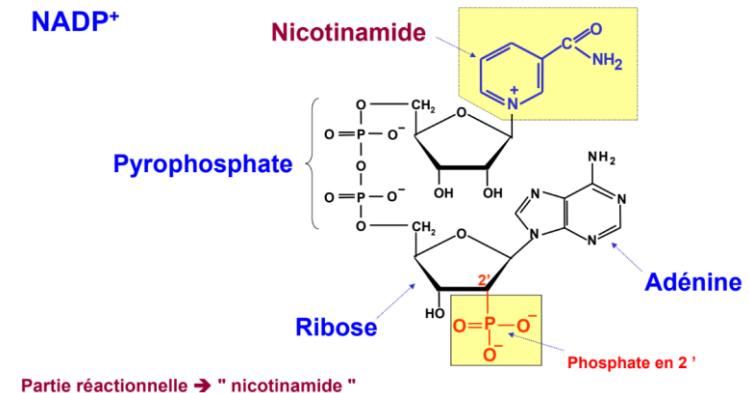


## Le NADP:

Coenzyme transportant *2e- et un H+*

Coenzyme de réactions de **réduction** (voies *anaboliques cytoplasmique*)

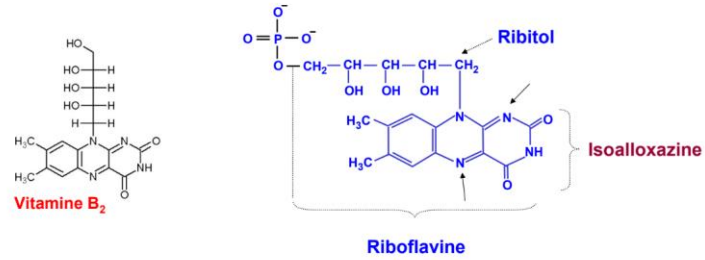
Coenzyme provenant de la **vitamine B3**



# FMN :

Coenzyme transportant **2 atomes d'hydrogène**, peu abondant. Il provient de la **vitamine B2**

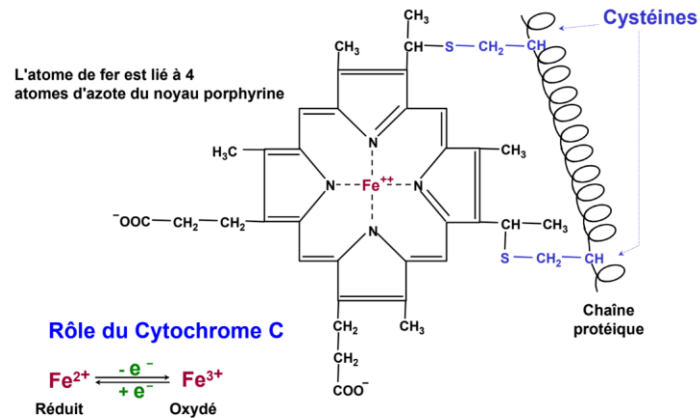
Formule du FMN



Riboflavine = Ribitol + isoalloxazine

Partie réactionnelle → noyau " Isoalloxazine "

# Cytochrome C :

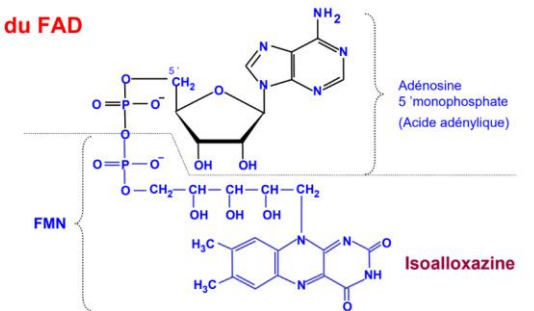


Transporteur d'électrons de la chaîne respiratoire par changement de valence de l'atome de Fer ; 1 électron à la fois

# FAD :

Coenzyme transportant **2 atomes d'hydrogène**, abondant. Il provient de la **vitamine B2**

Formule du FAD

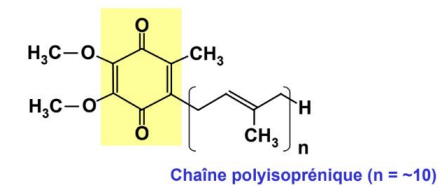


Partie réactionnelle → noyau " Isoalloxazine "

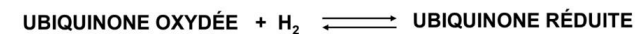
# Coenzyme Q :

Le Coenzyme Q est synthétisé par les cellules

Formule du Coenzyme Q



Réactivité du Coenzyme Q



Partie réactionnelle → structure ubiquinone

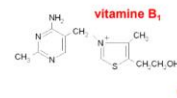
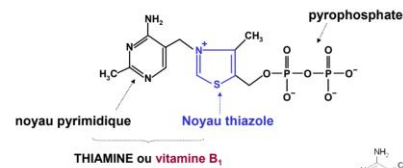


# Les Coenzymes de réactions de transfert de groupements

## Thiamine PyroPhosphate :

Coenzyme participant au transfert de groupements *acyls*, provenant de la **vitamine B1**.

Formule du TPP

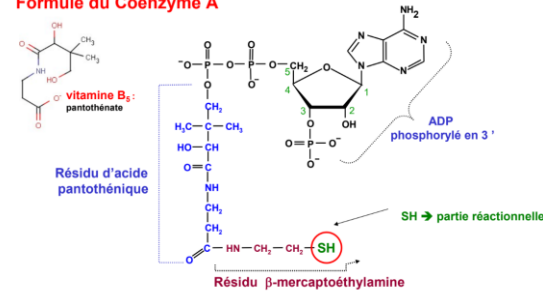


Partie réactionnelle → noyau "thiazole"

## Coenzyme A :

Coenzyme transporteur de groupements *acyls et acétyls*, provenant du **pantothénate**

Formule du Coenzyme A



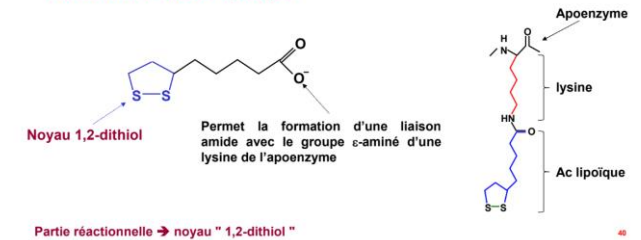
## Pyridoxal Phosphate:

Coenzyme des *transférases*, mais aussi *décarboxylases*, provenant du pyridoxamine ou **vitamine B6**

## Acide lipoïque :

Coenzyme accepteur immédiat de l'*aldéhyde* généré par le **TPP**

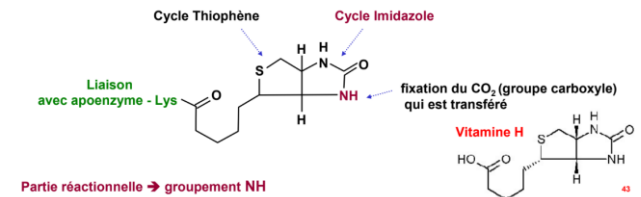
Formule de l'acide lipoïque



## Biotine :

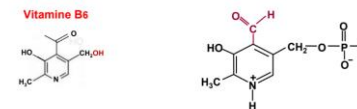
Coenzyme des *carboxylases*, provenant de la **vitamine H**

Formule de la BIOTINE

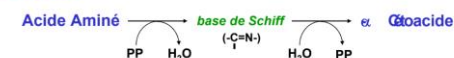


Formule

La partie réactionnelle est la fonction aldéhyde sur le Carbon 4



Réactivité



# Les Macroenzymes

Les Macroenzymes sont des complexes de **haut poids moléculaire** formés par l'association d'une enzyme avec une *macromolécule sérique*.

*TYPE 1* : type de macroenzyme le plus fréquent (ex : lipase, amylase, phosphatase alcaline). L'enzyme est associée à une **immunoglobuline** de type G .

Elles peuvent être le reflet d'une pathologie **auto-immune**.

*TYPE 2* : (ex : Créatine Kinase, Gamma-glytamytransférase )

Ici, on parle alors **d'auto-polymérisation** de l'enzyme. Ces macroenzymes sont souvent le signe d'une **pathologique hépatobiliaire**.

# FIN

