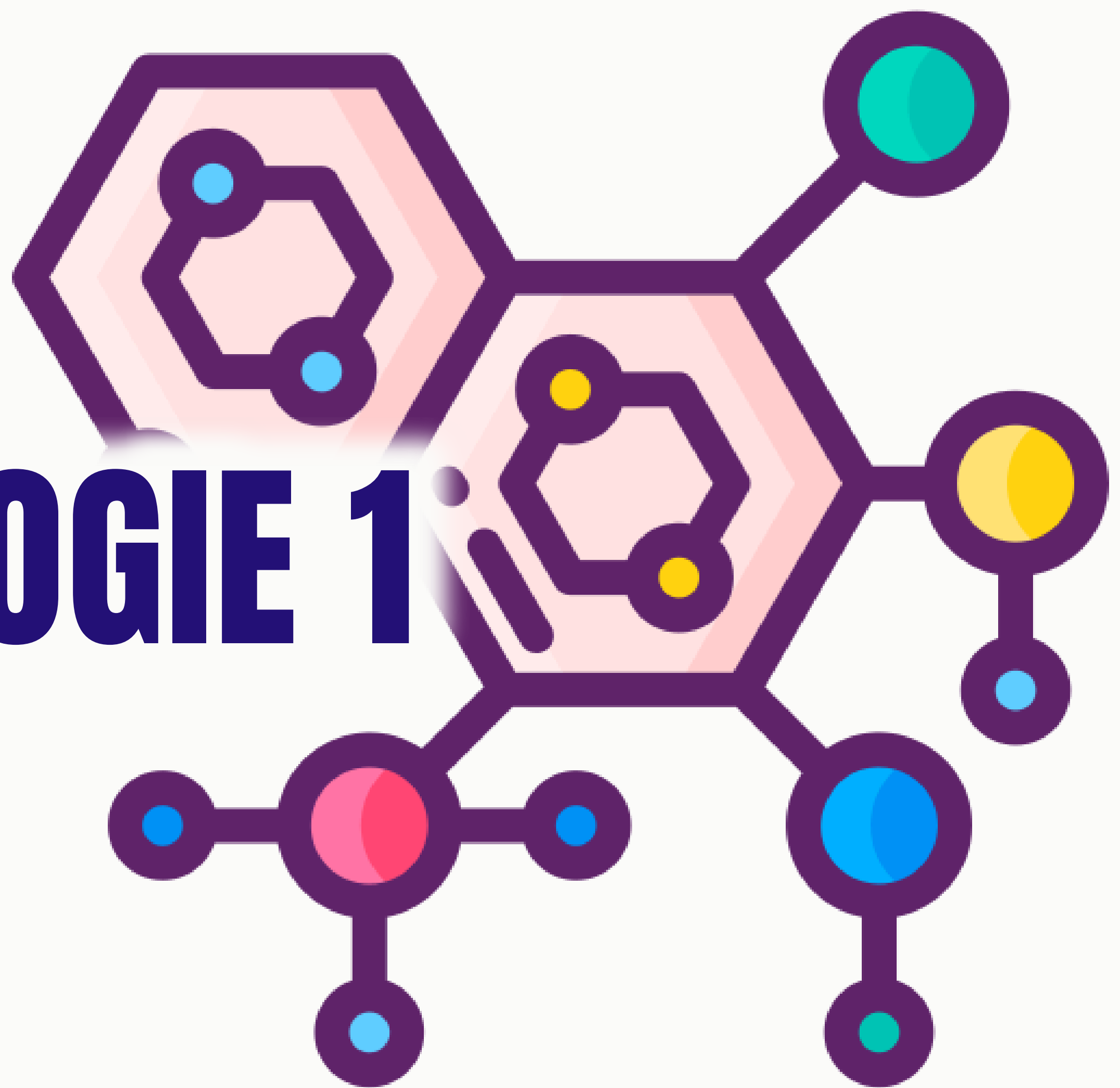




BIOCHIMIE

ENZYMOLOGIE 1

Virgile de la Tourette



L'enzymologie c'est quoi ?



→ L'étude des propriétés structurales et fonctionnelles des enzymes ainsi que la cinétique enzymatique

Les enzymes :

- Des protéines (**Sauf les ribozymes**)
- Accélèrent les réactions (Catalyse)
- Site actif
- Tous les compartiments cellulaires
- Déterminées génétiquement

Pourquoi s'intéresse-t-on aux enzymes ?



Parce que ça tombe à l'examen ?? alors oui mais pas que

Rôle physiologique majeur :

- Accélère des réactions pour qu'elles soient compatibles avec la vie
- Impliquées dans nos voies métaboliques et leur régulation

Plus particulièrement en santé :

- Nombreuses pathologies
- Utilisation en pharmacologie : cible de nombreux médicaments



Généralité sur les enzymes



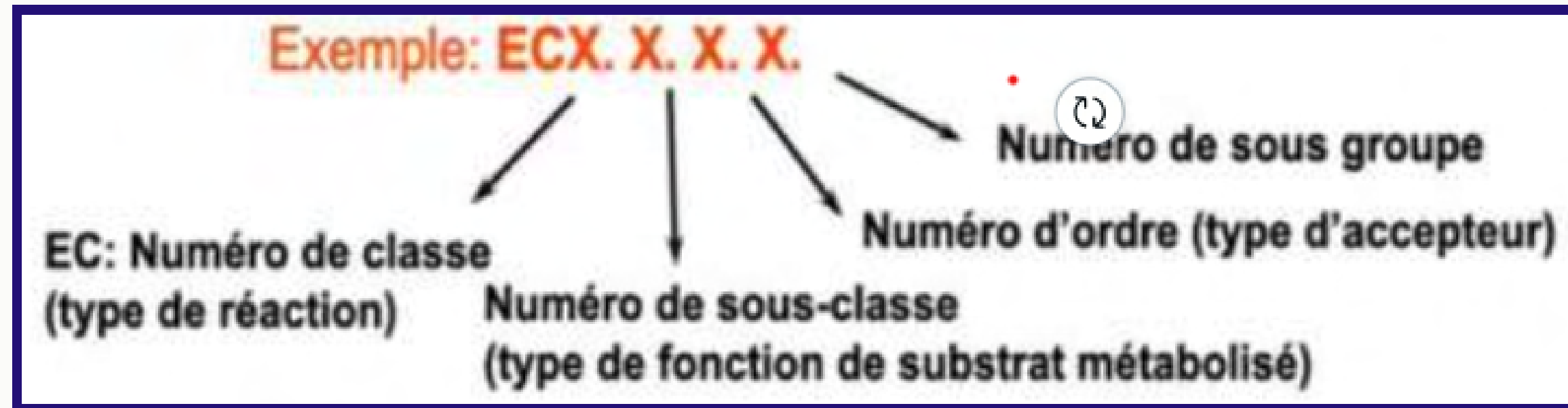
Comment fonctionnent les enzymes ?

- Catalysent une réaction
- Agissent à des concentrations très faibles
- Ne modifient pas le résultat d'une réaction
- Spécifiques à une réaction
- Restent inchangées à la fin de la réaction = réutilisables
- Nom = réaction catalysée + ase

Classification des enzymes



- Systématisée par l'union internationale de biochimie (1961)
- Basée sur le type de réaction catalysée (y'en a 6)
- Identifiée par 4 chiffres précédés par EC



Différents types de réactions



On les a déjà vus dans intro métabo 🧐

6 classes

1	Oxydo-réductase	Réaction d'oxydo-réduction
2	Transférase	Transfert de groupements fonctionnels
4	Hydrolase	Réaction d'hydrolyse
5	Lyase	Addition de groupe sur une double liaison ou élimination pour former une double liaison
3	Isomérase	Transfert de groupes à l'intérieur d'une molécule
6	Ligase	Formation de liaisons C-C, C-O, C-S ou C-N nécessitant de l'ATP

Intervenants dans une réaction enzymatique

Les intervenants et leurs rôles :

- Le **substrat** qui va subir la transformation chimique
- Le **produit** résultat de la transformation chimique
- Le **ligand** a une liaison spécifique avec une protéine
- Le **co-facteur** composé chimique nécessaire au déroulement de certaines réactions enzymatiques :
 - **transporter** le substrat
 - **accepter** un produit
 - **participer** à la forme active de l'enzyme
- Le **coenzyme** cofacteur complexe indispensable à l'enzyme

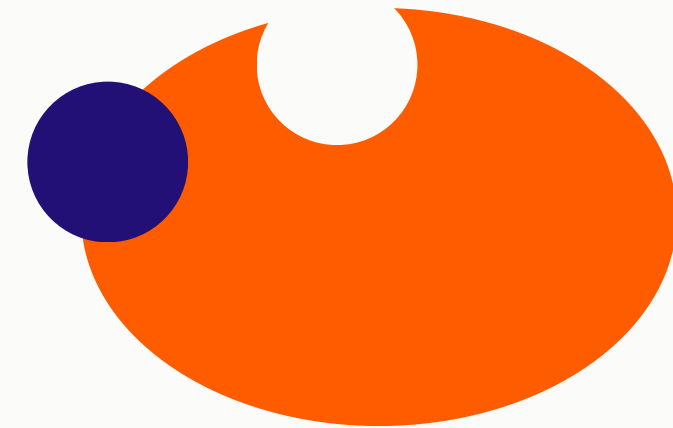


Holoenzyme et Apoenzyme

Définitions très importantes ça peut tomber ;)

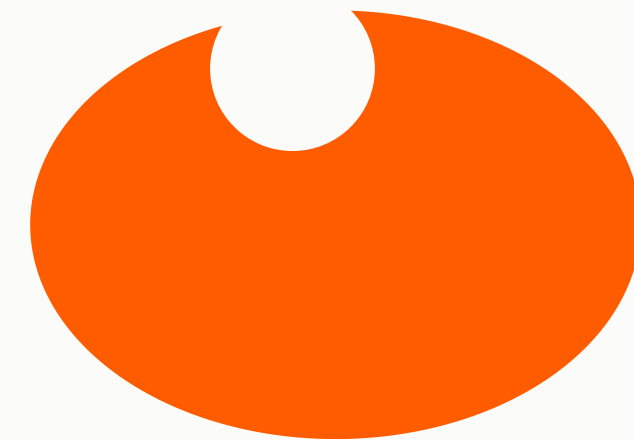
Holoenzyme :

- Enzyme **active** liée à son cofacteur/coenzyme



Apoenzyme :

- Enzyme **inactive**, uniquement la partie protéique



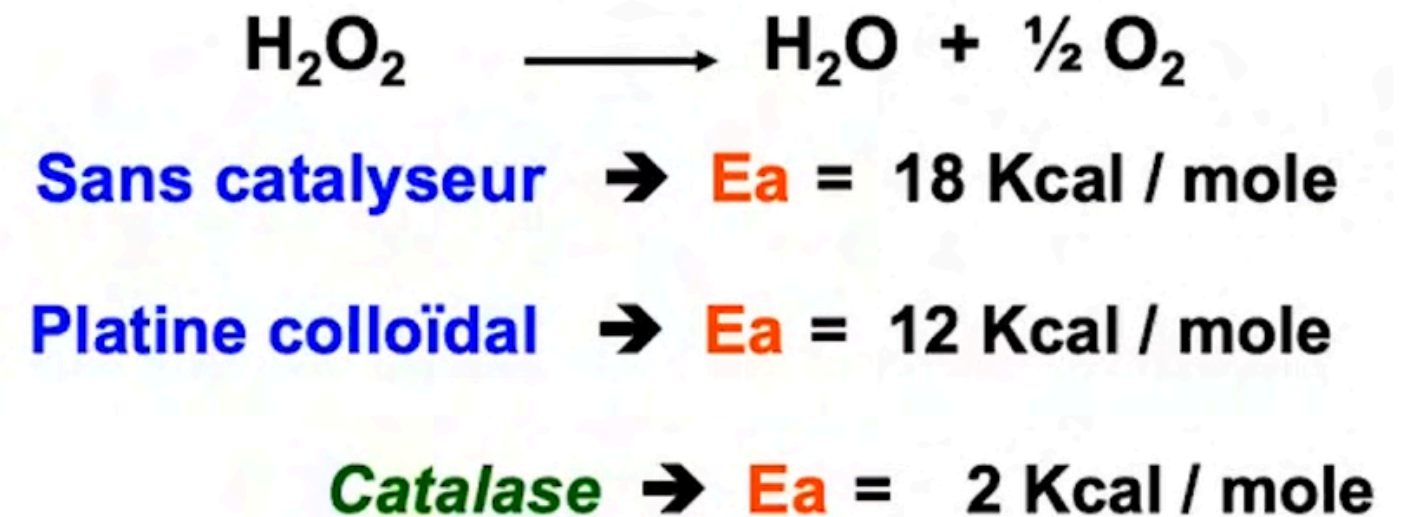
Holoenzyme = Apoenzyme + Coenzyme



Propriété catalytique des enzymes

L'énergie d'activation (EA) :

- La **barrière énergétique** que le substrat doit franchir pour être transformé en produit
- Les enzymes sont des **catalyseurs biologiques**
- Augmentent la vitesse de 10^7 à 10^{16}



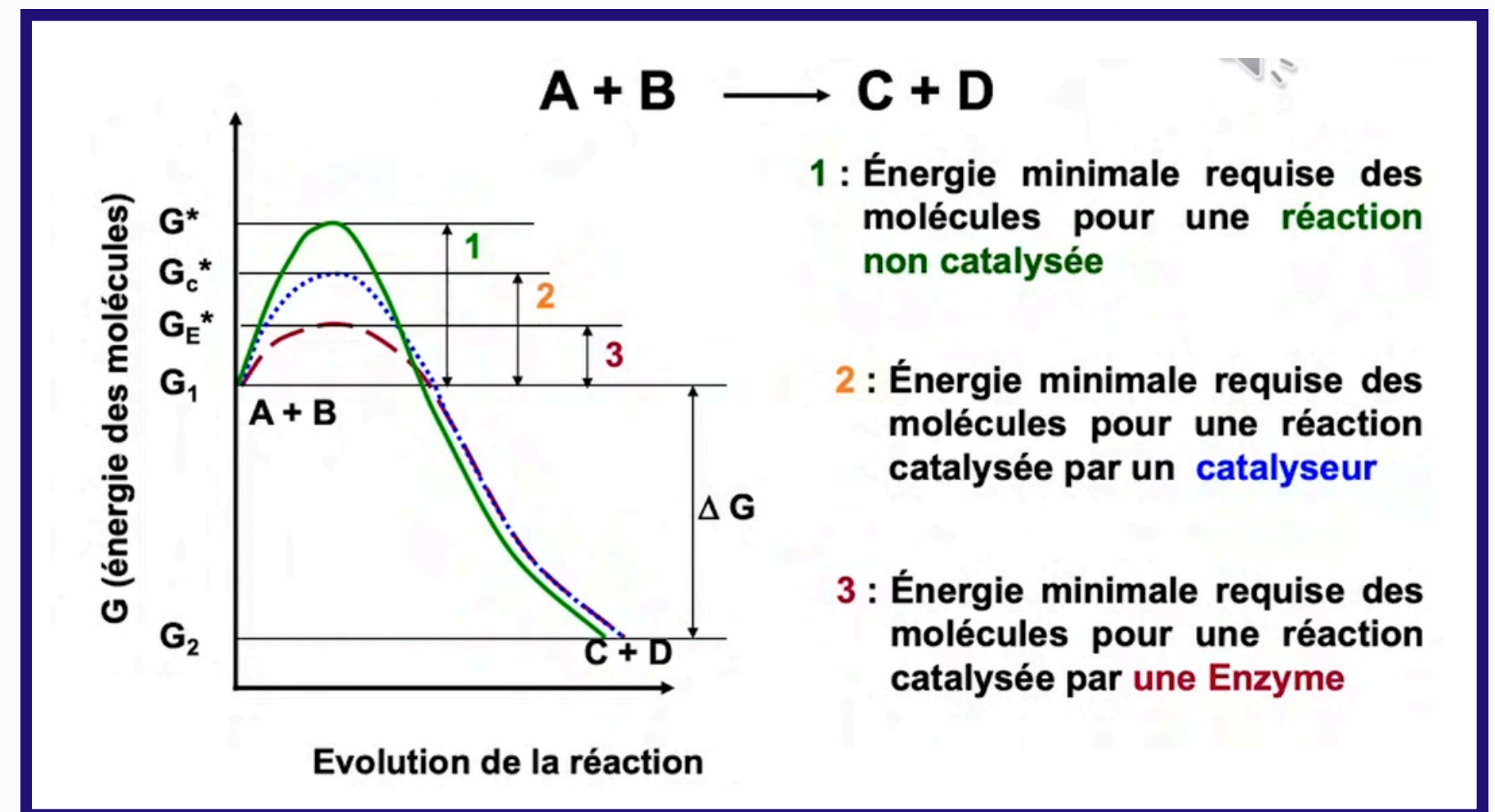
Une molécule de catalase permet la réduction de $5 \cdot 10^6$ (5 millions) par minute !



Propriété catalytique des enzymes

L'état de transition :

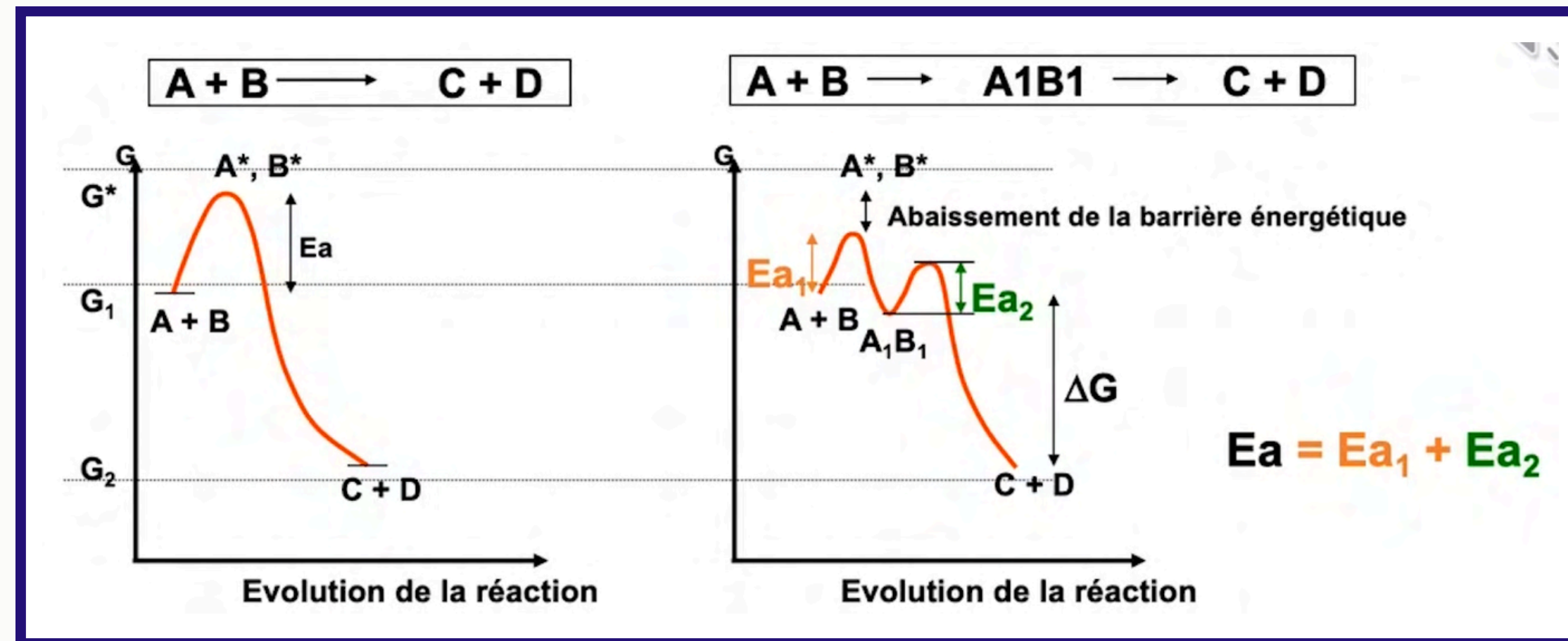
- **État d'énergie maximal** du substrat où il subit des modifications structurales
- Réaction possible $\Delta G < 0$
- **EA** énergie pour atteindre **l'état de transition**



Propriété catalytique des enzymes

Baisse de l'EA :

- Direct
- **Indirect** : avec des intermédiaires de réaction, **baisse** de la barrière énergétique
- $EA = EA_1 + EA_2$



Propriété catalytique des enzymes

Règles de la catalyse, un catalyseur :

- Ne provoque jamais la réaction
- Ne rend jamais possible une réaction impossible $\Delta G > 0$
- Agit sur la vitesse de réaction (l'augmente)
- Reste toujours intacte à la fin d'une réaction (réutilisable)
- Agit à de très faibles concentrations
- Ne change pas l'équilibre d'une réaction réversible

Les enzymes, catalyseurs biologiques :

- Sont des protéines (**sauf les ribozymes qui sont à ARN**)
- **Augmentent** très fortement la vitesse de réaction
- Sont **spécifiques** à une réaction donnée



Spécificité des enzymes

La spécificité :

- **Évite** la formation de sous produit, une seule réaction sur un seul substrat
- Vis à vis du **substrat**
- Vis à vis de la **réaction**

La spécificité de réaction :

- À partir d'une molécule donnée, **qu'une seule réaction possible**

La spécificité de substrat :

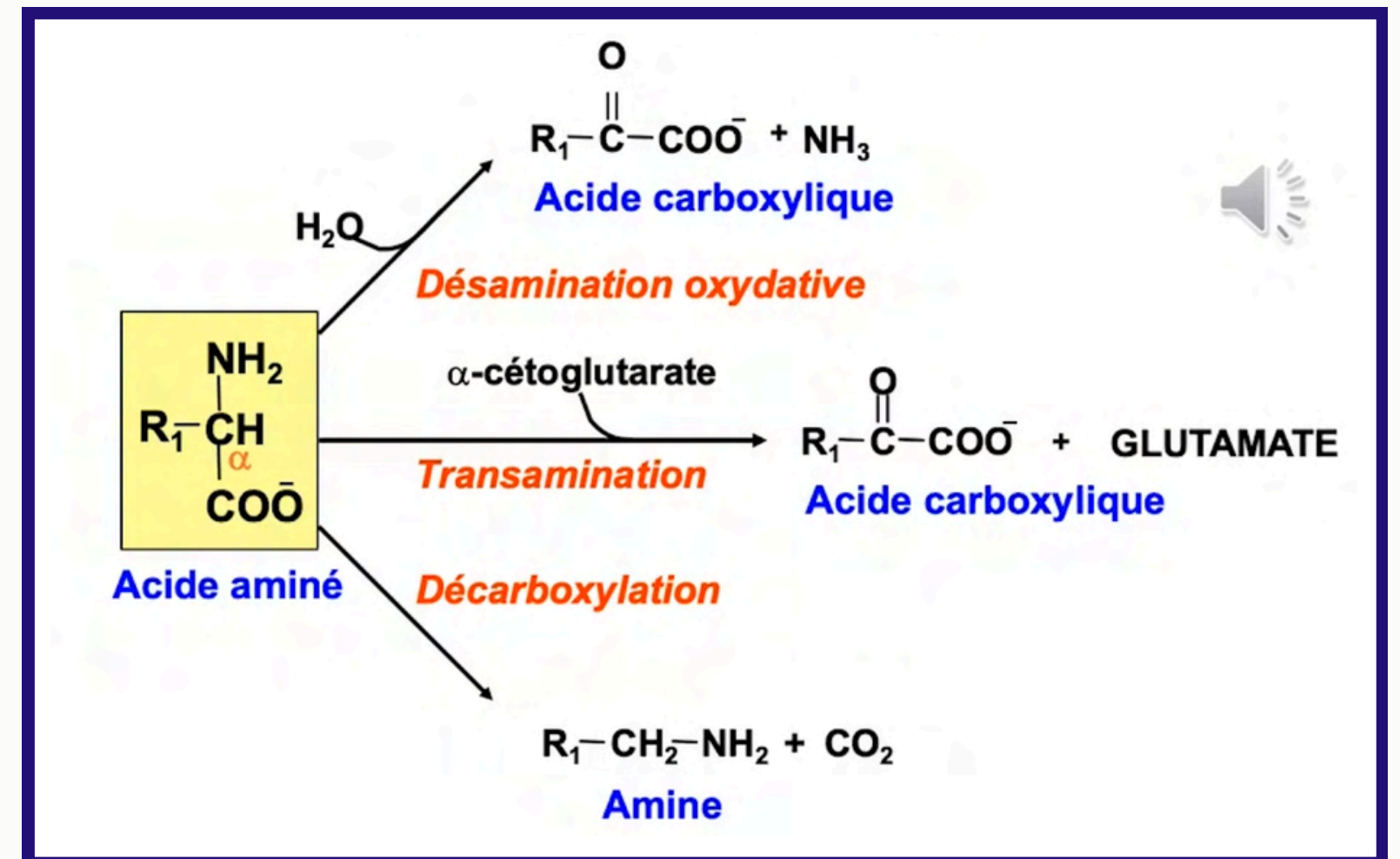
- L'enzyme et le substrat doivent avoir la bonne liaison au bon endroit (**relation structure/activité**)
- Le substrat doit être accessible et être capable de faire la réaction
- Souvent agit sur une **classe de substrat**



Spécificité des enzymes

La spécificité de réaction :

- Un substrat donné peut subir différentes réactions, mais chaque réaction sera catalysée par une enzyme **différente**
- Ex d'un AA :
 - Désamination oxydative
 - Transamination
 - Décarboxylation



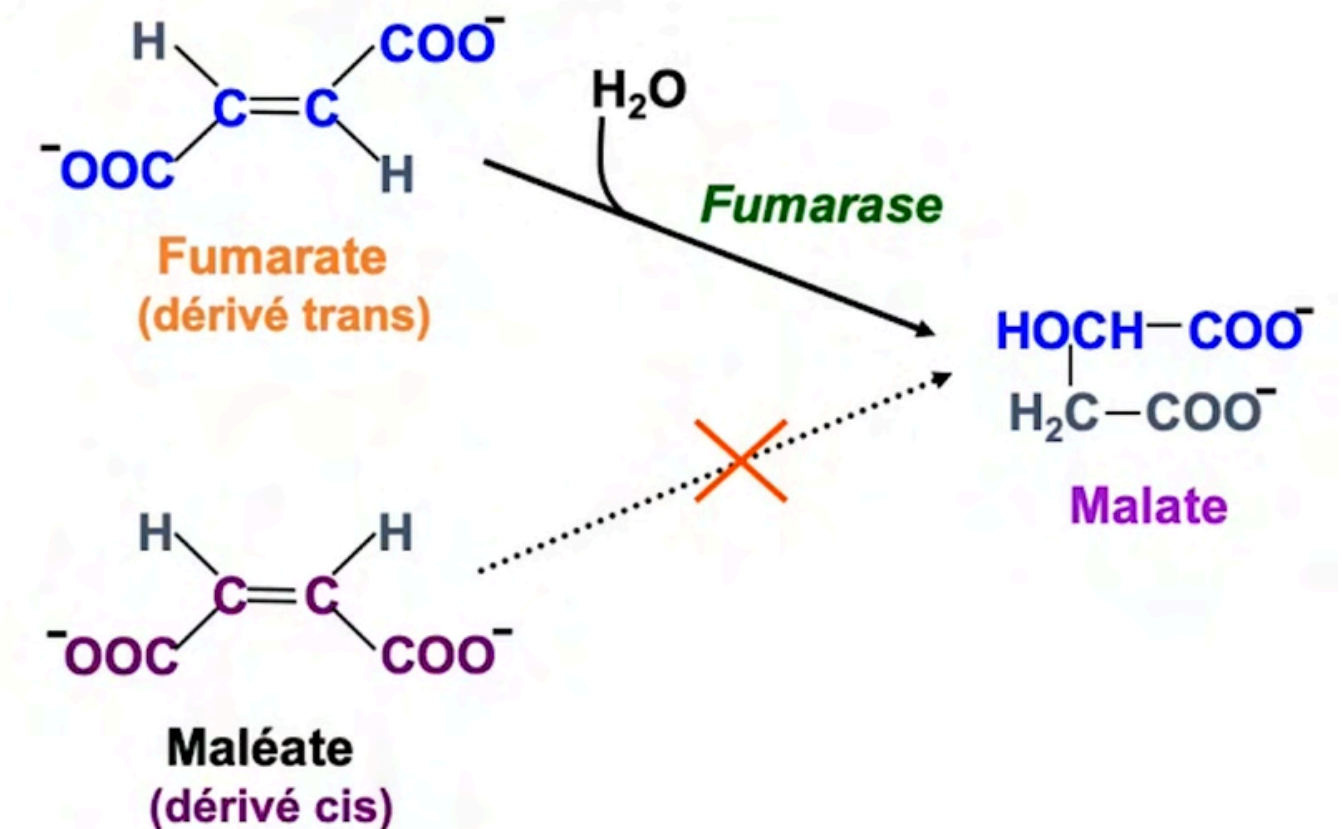
Spécificité des enzymes

La spécificité de substrat :

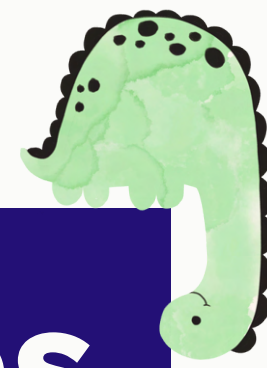
- **Stéréospécifique** : vis à vis d'un seul isomère
- Différencie isomères optiquement actifs (**cis ou trans**)
- Agit seulement sur un des 2
- **Ex fumarase** :
 - Addition d'une molécule d'eau sur la double liaison
 - Seulement sur le fumarate



1 - Vis à vis d'un seul isomère



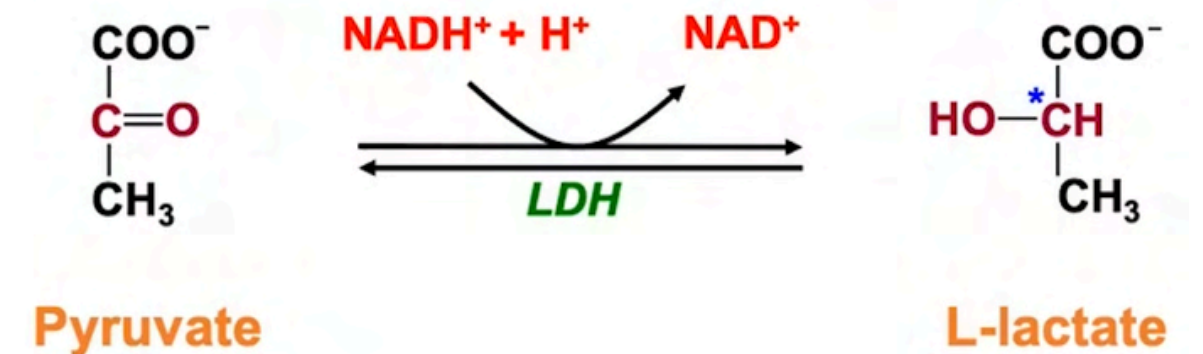
Spécificité des enzymes



La spécificité de substrat :

- Vis à vis d'une forme optiquement active (**R ou S**)
- **Ex lactate déshydrogénase :**
 - Réduit le lactate en pyruvate
 - Le lactate existe sous deux forme (**L et D**)
 - LDH spécifique au L-lactate et d'autres au D-lactate

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

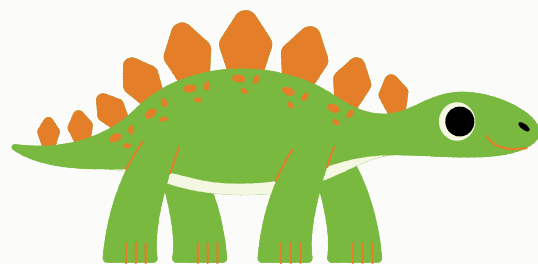
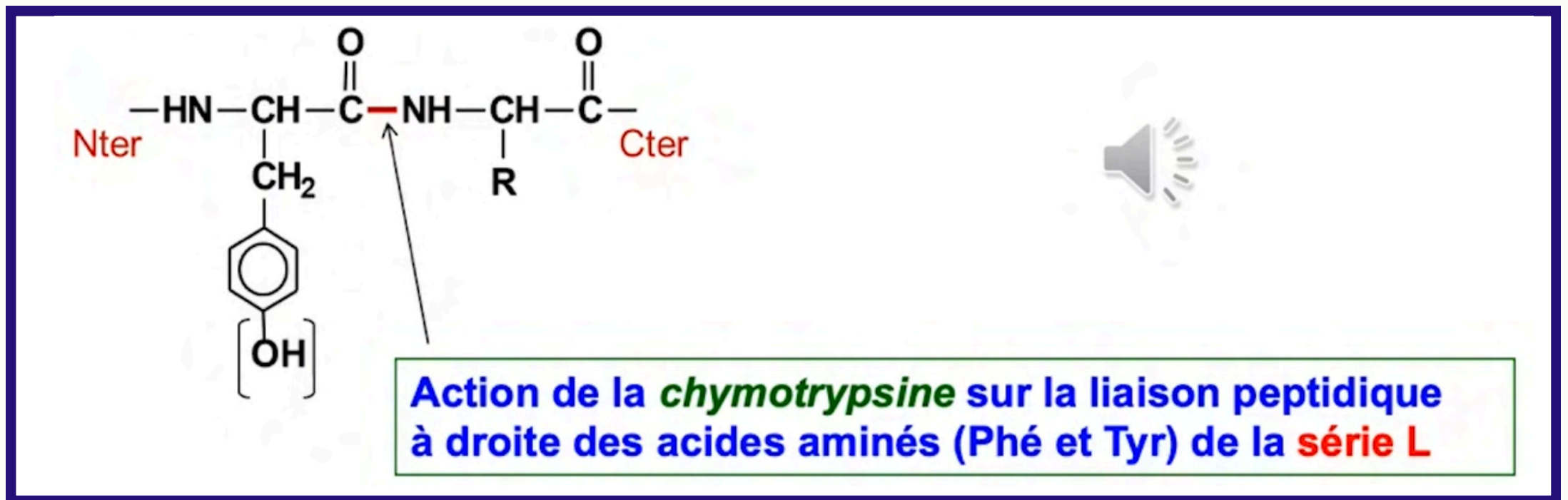


LDH : Lactate Déshydrogénase

Spécificité des enzymes

La spécificité de substrat :

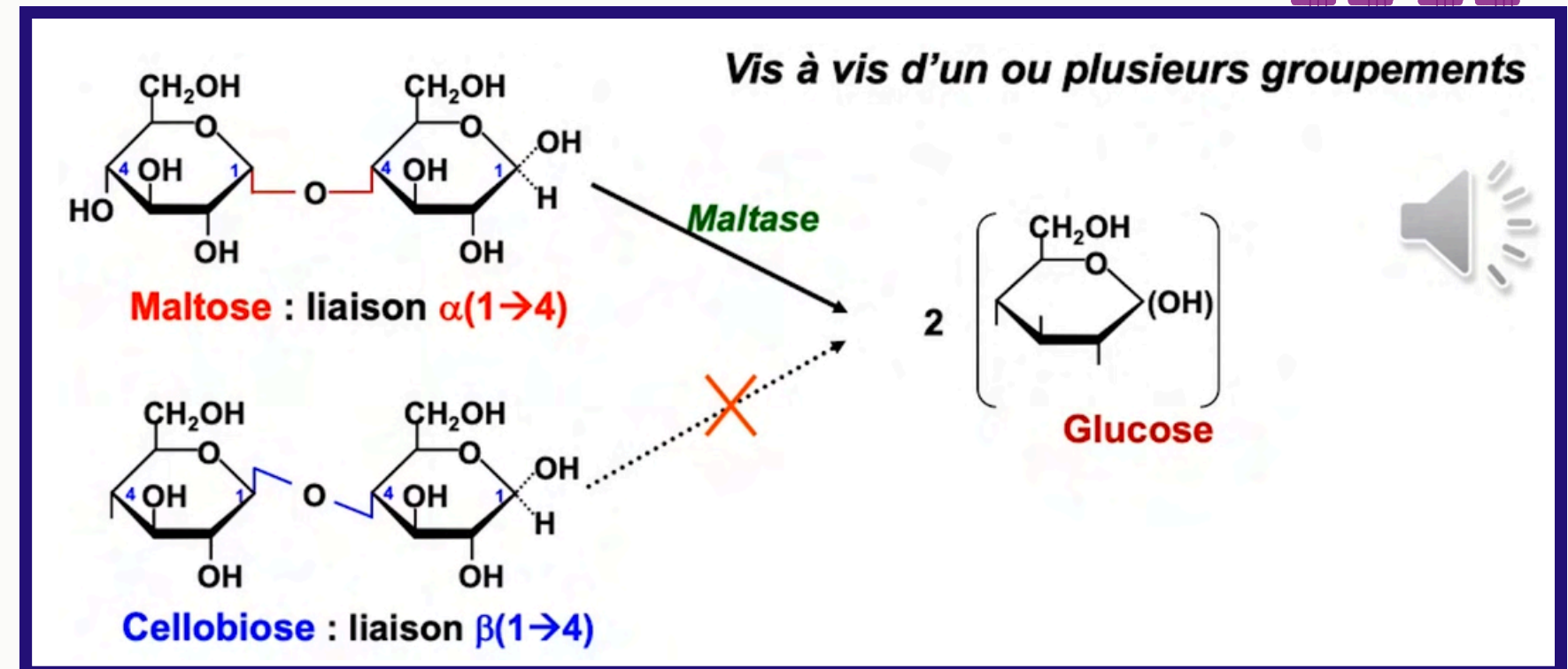
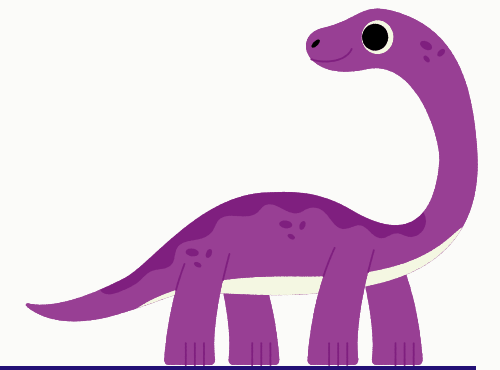
- Vis à vis d'un **type de liaison** ou d'un **type de groupement**
- Reconnaît la liaison **mais aussi** l'environnement
- **Ex endopeptidase** et **exopectidase**
- **Ex d'endopeptidase la chymotrypsine :**
 - Coupe plus facilement à droite d'un AA aromatique



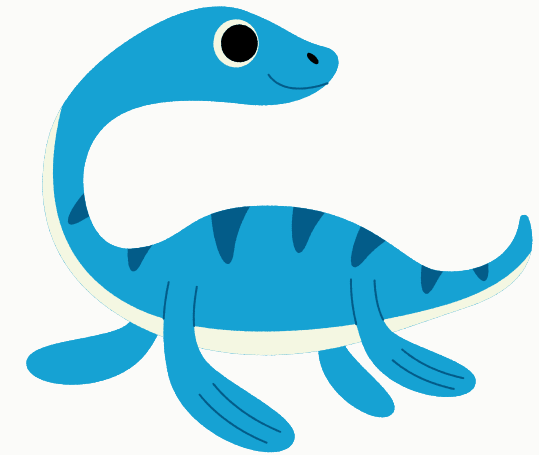
Spécificité des enzymes

La spécificité de substrat :

- Vis à vis d'un ou plusieurs groupements
- Ex maltase :
 - **Hydrolyse** le maltose pour donner **2 glucose**
 - Ne fonctionnent que sur les liaisons de type **α (1 \rightarrow 4)**

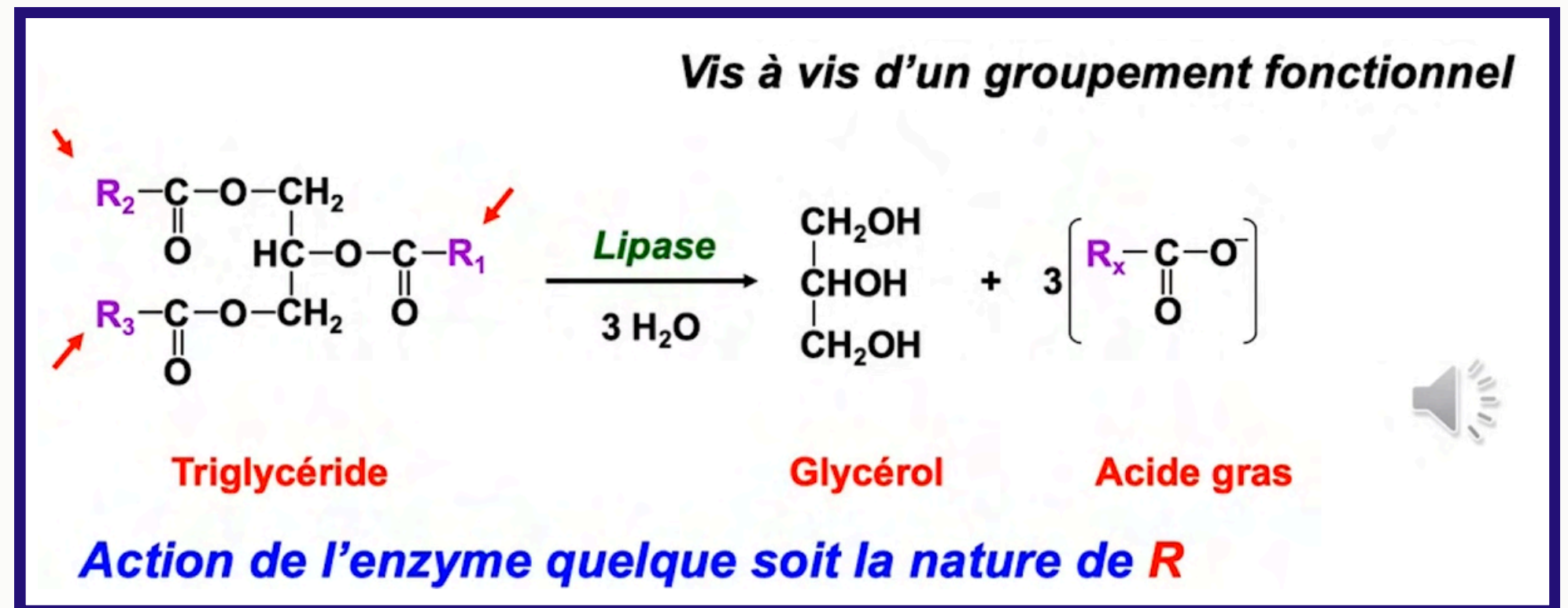


Spécificité des enzymes



La spécificité de substrat :

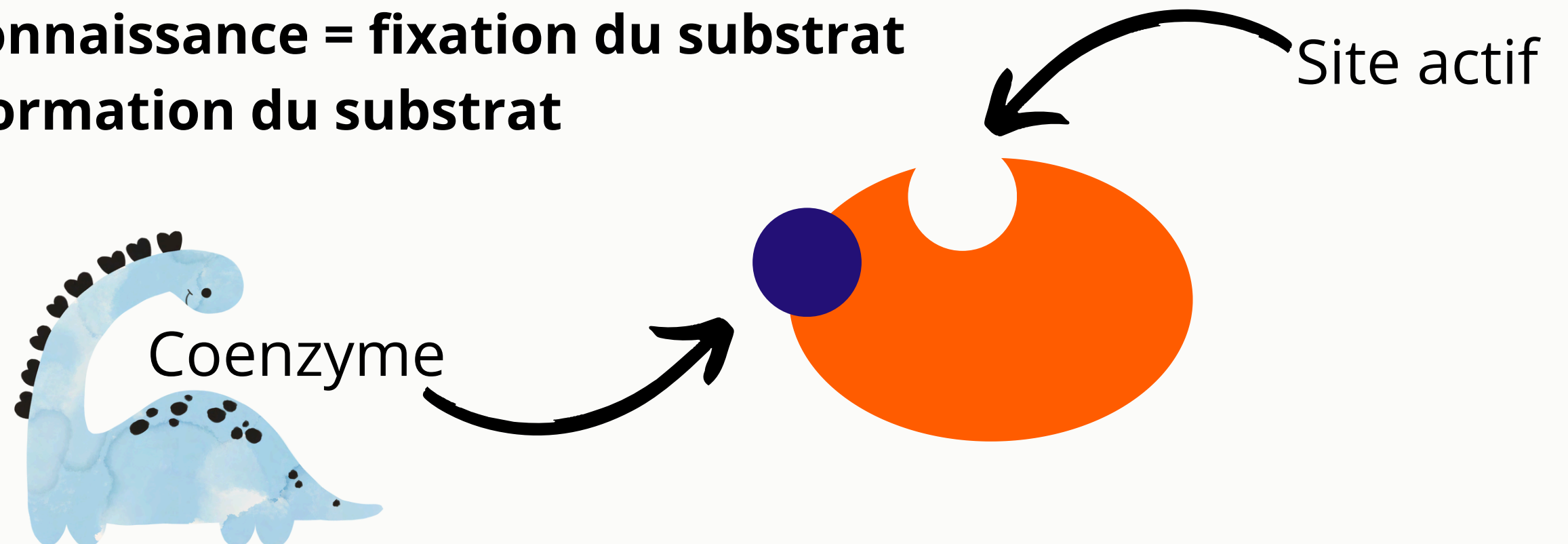
- Moins stricte, plus large vis à vis d'un **groupement fonctionnel**
- **Ex Lipase :**
 - **Hydrolyse** les TG en AG et glycérol
 - **Indépendamment** du type d'AG dans le TG



Structure protéique des enzymes

Le site actif :

- Degrés de complémentarité entre leur structure = **Site actif**
- **Petite partie** de la protéine capable de :
 - **Reconnaître**
 - **Transformer**
- Un ou plusieurs **sites de reconnaissance** = **fixation du substrat**
- Un **site de catalyse** = **transformation du substrat**

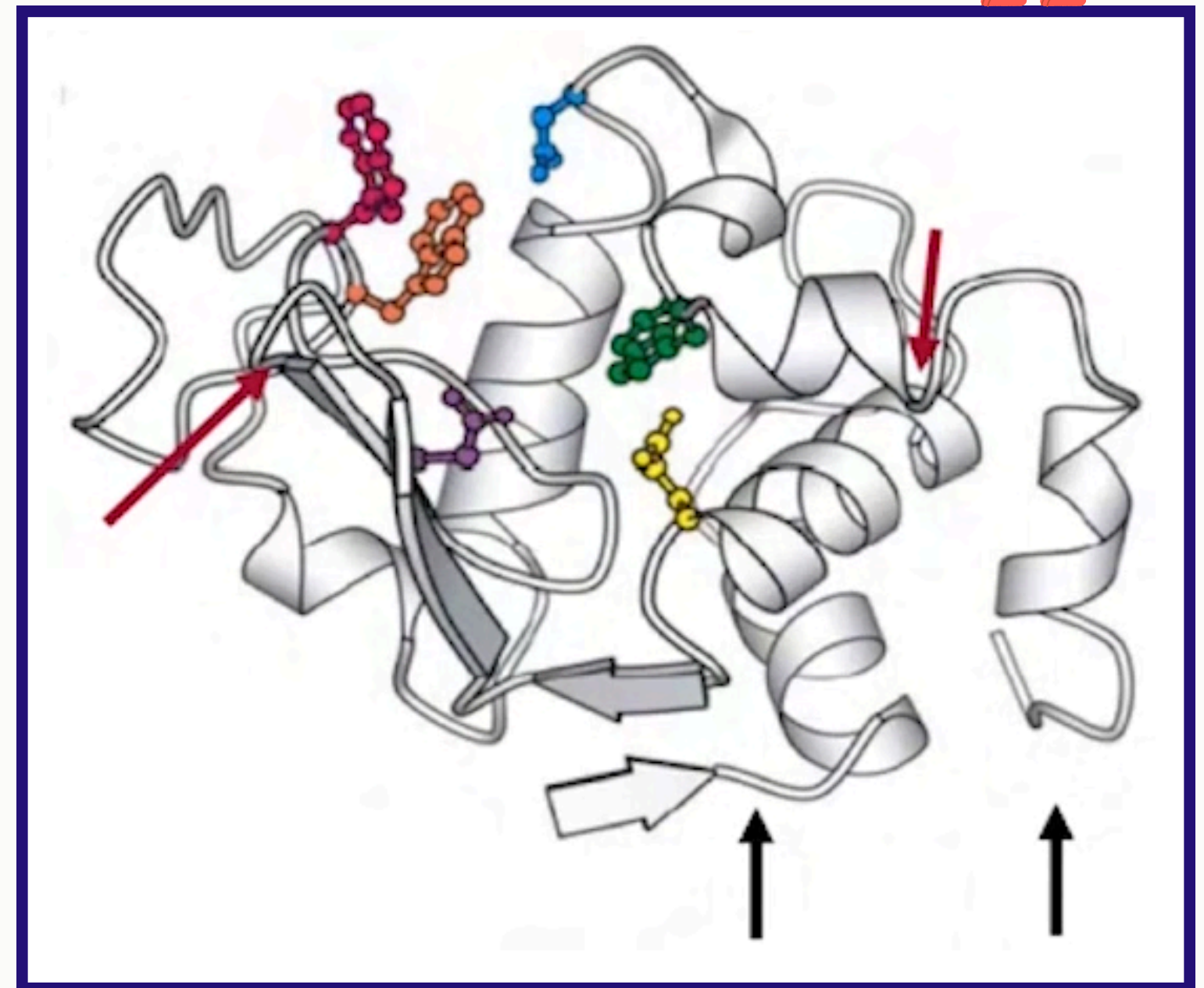


Structure protéique des enzymes

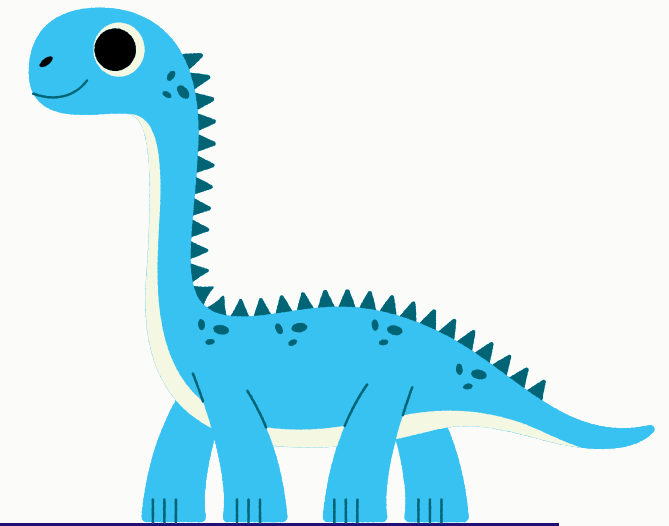


Les AA du site actif :

- AA indifférents :
 - N'interviennent pas
 - Nombre variable
 - Localisés aux **extrémités N et C-term**
- AA de conformation :
 - N'interviennent pas
 - **Stabilisent** l'enzyme dans sa forme active

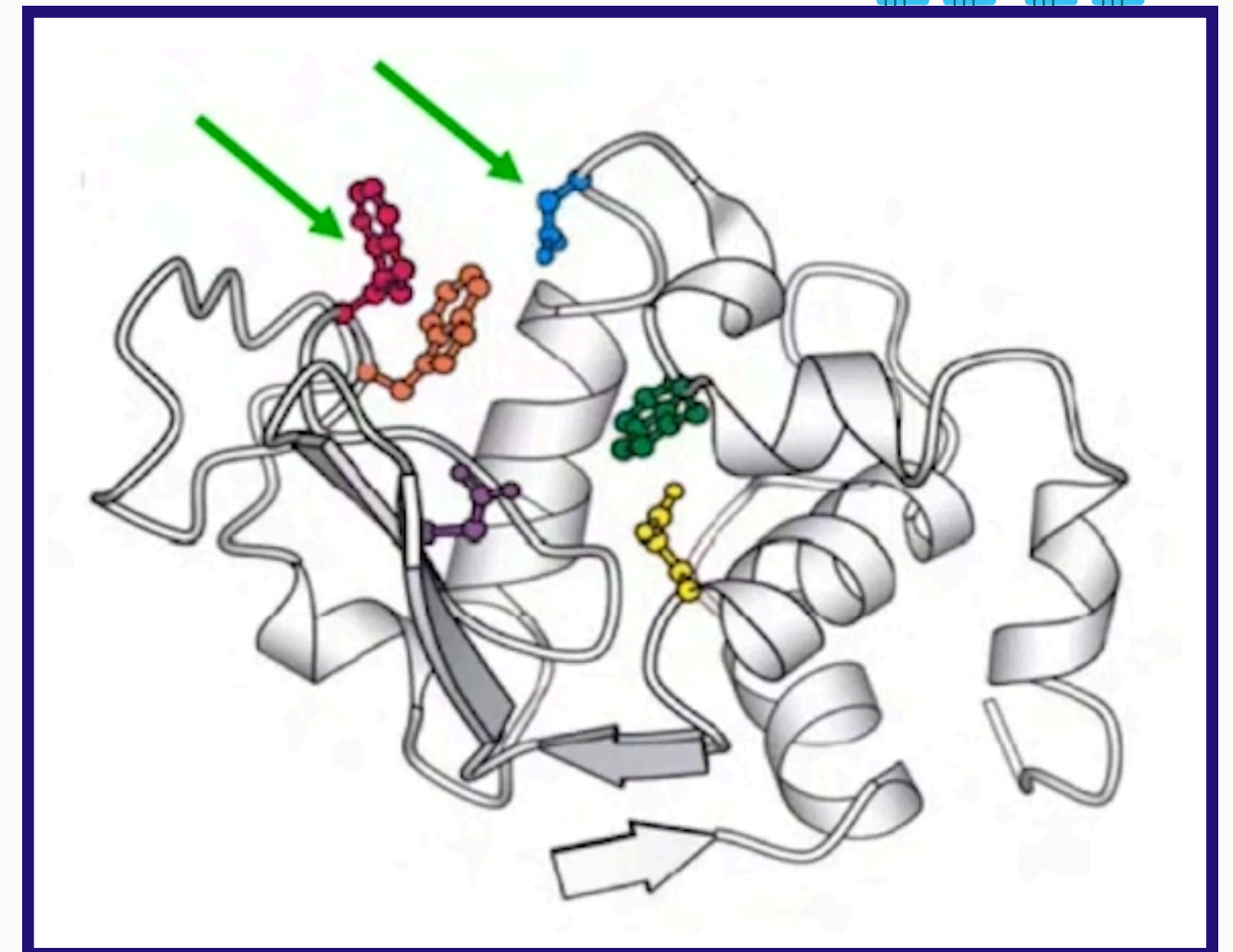


Structure protéique des enzymes



Les AA du site actif :

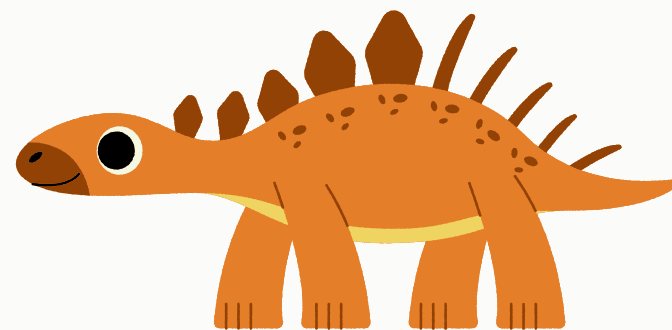
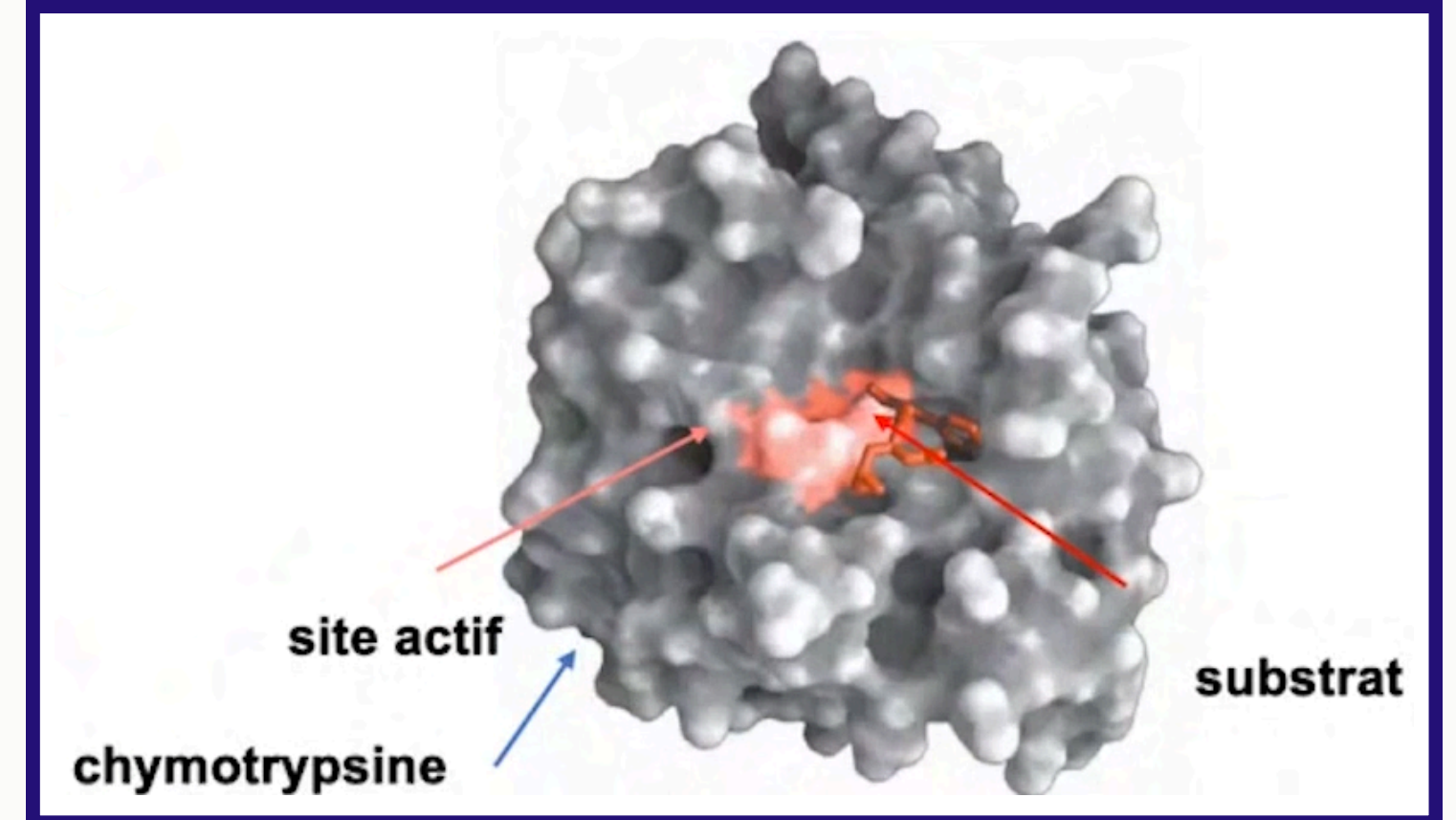
- AA auxiliaires :
 - Proches du site catalytique
 - PAS d'interaction directe avec le substrat
 - Assurent la **flexibilité** de l'enzyme
- AA de contact :
 - Interaction directe avec le substrat
 - Spécificité de l'enzyme
 - Petit nombre <10
 - Ne sont pas forcément **proches** dans la **séquence primaire de l'enzyme**



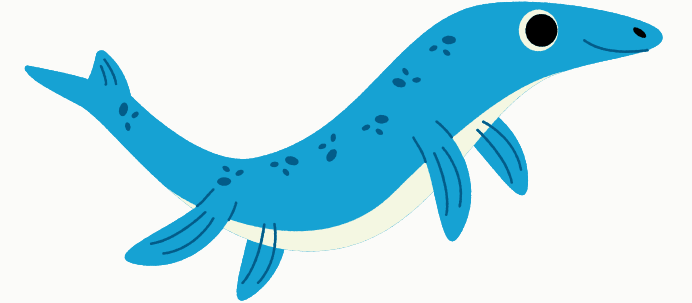
Structure protéique des enzymes

Caractéristique du site actif :

- Correspond à une **crevasse** dans l'enzyme
- **Faible volume** de l'enzyme = **petit nombre d'AA impliqués**
- Constitue **un micro environnement**
- Lors d'une **réaction enzymatique**
= **formation d'un complexe enzyme-substrat**



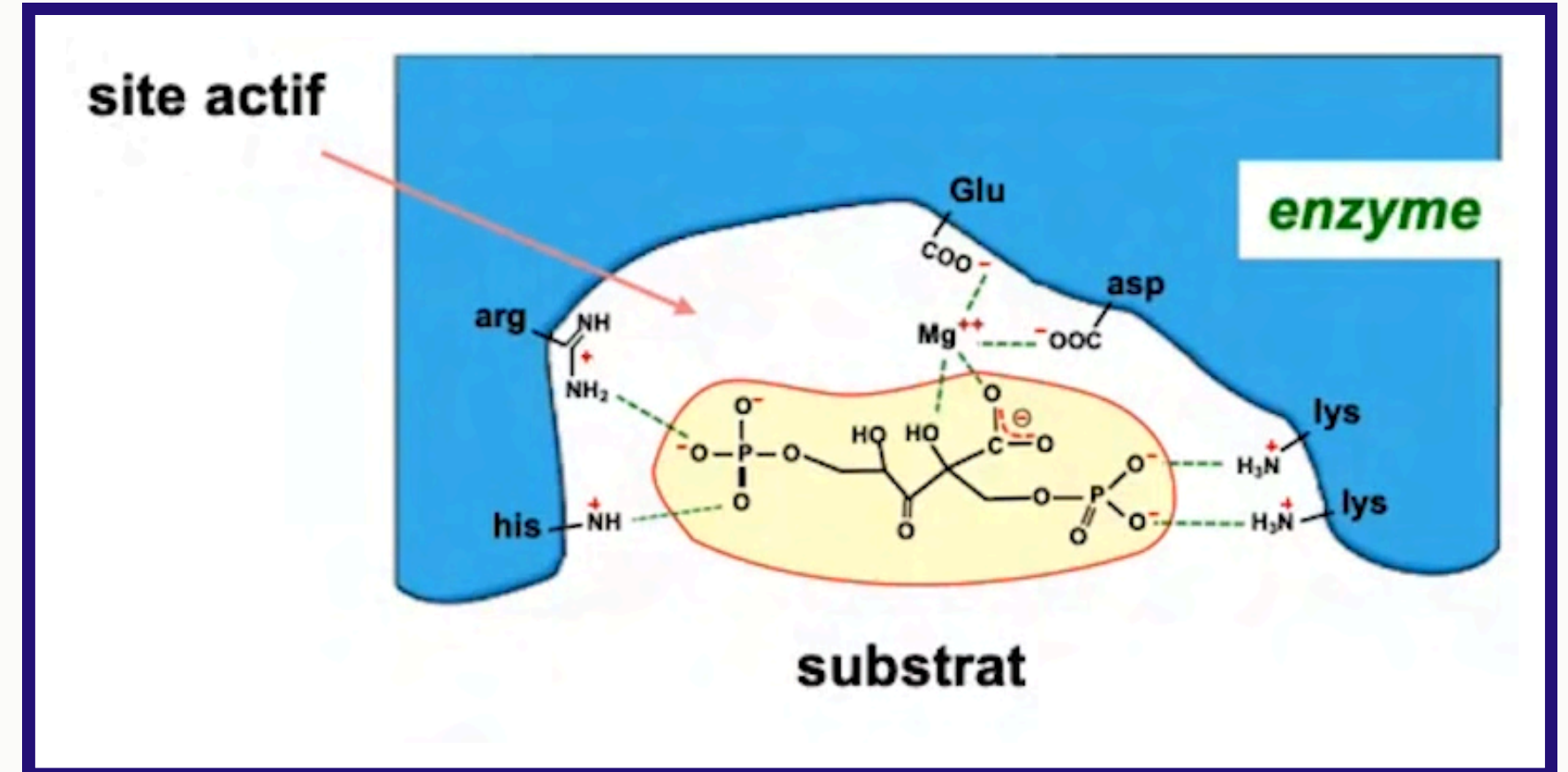
Structure protéique des enzymes



Acides aminés et site actif :

- Le type de liaison dans le complexe substrat sont les mêmes que dans la structure spatiale des protéines
- Liaison de **faible niveau énergétique**
- Association enzyme substrat est **très spécifique**
- Plusieurs **hypothèses** pour le modéliser

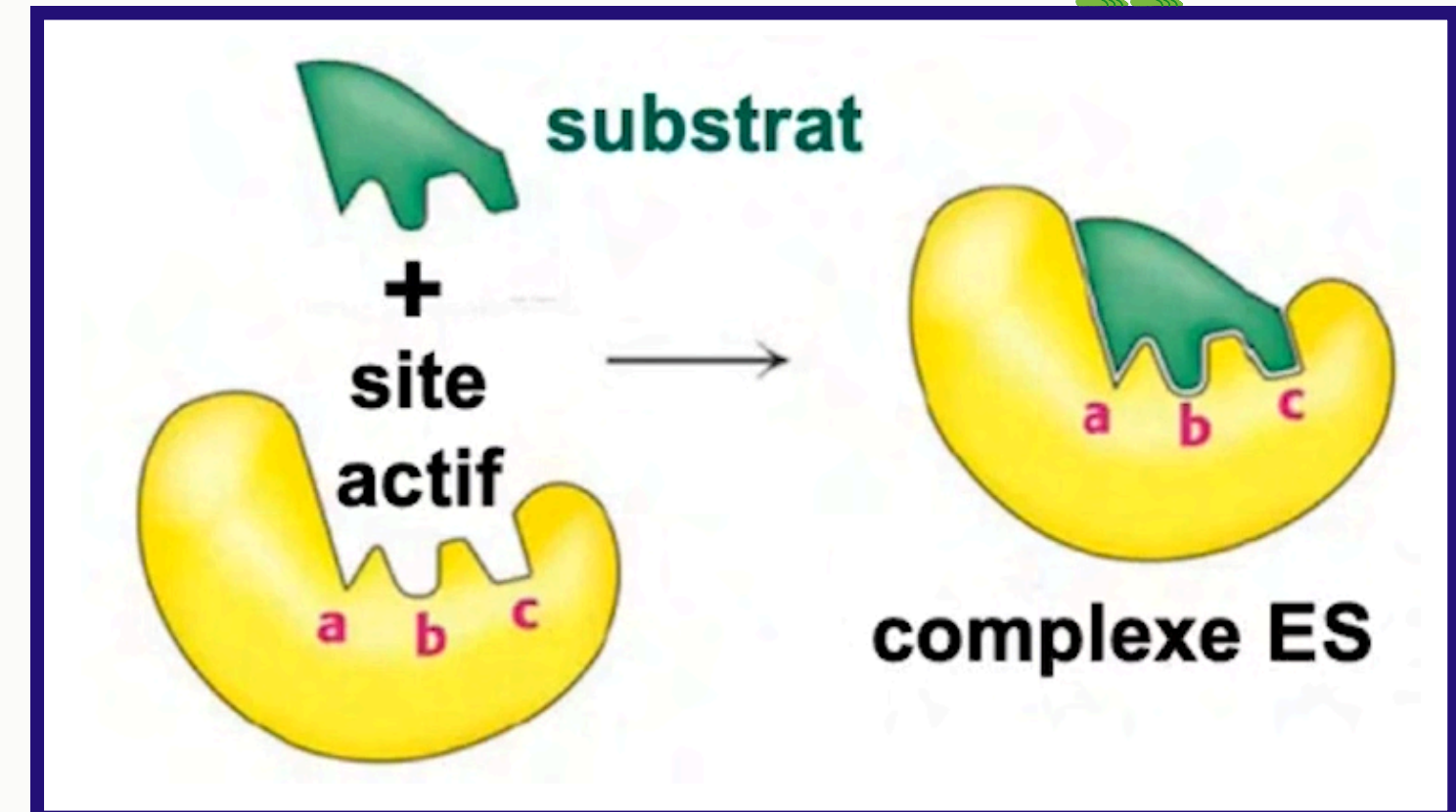
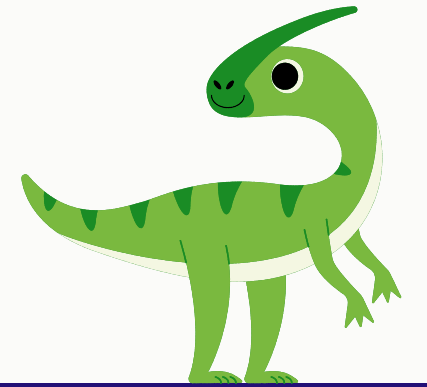
2 principaux modèles



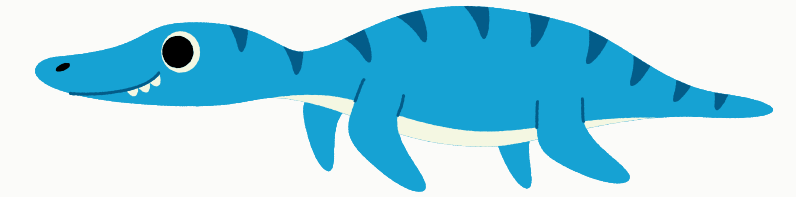
Structure protéique des enzymes

Modèle de Fischer ou clé serrure :

- Premier modèle
- Hypothèse de **complémentarité parfaite**
- Modèle statique
- **MAIS** il ne peut pas expliquer :
 - **Composé identique** mais **groupement moins volumineux** ne peuvent pas être catalyser
 - Mécanisme de **fixation ordonné**, où nécessité de fixation du **substrat A** avant **B**
- **Modèle abandonné**

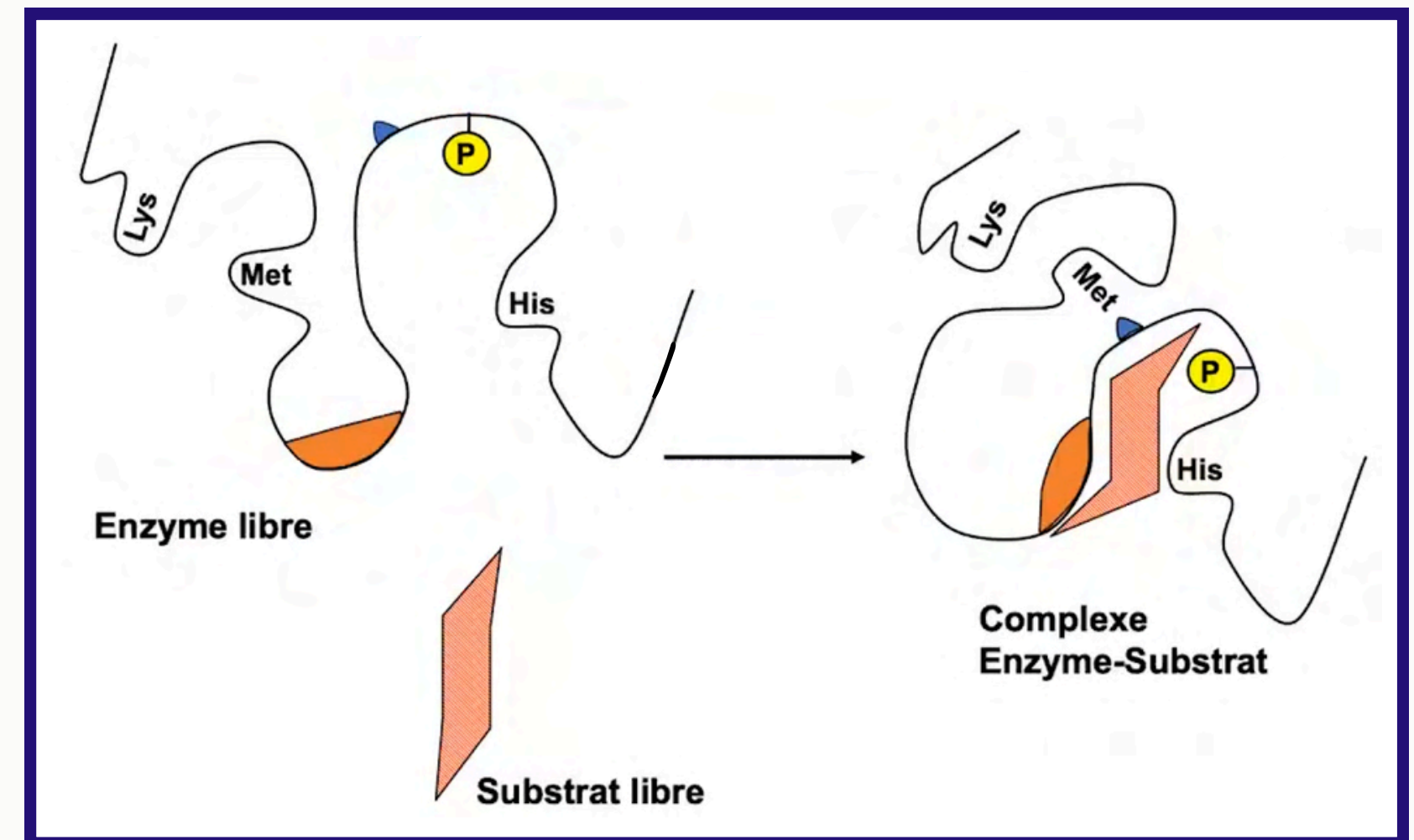


Structure protéique des enzymes



Modèle de Koshland ou ajustement induit :

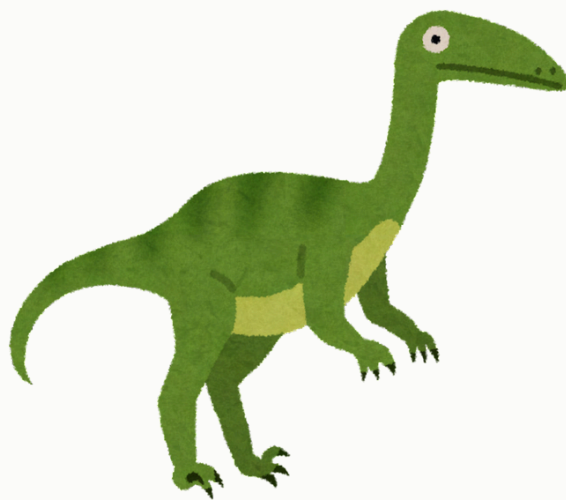
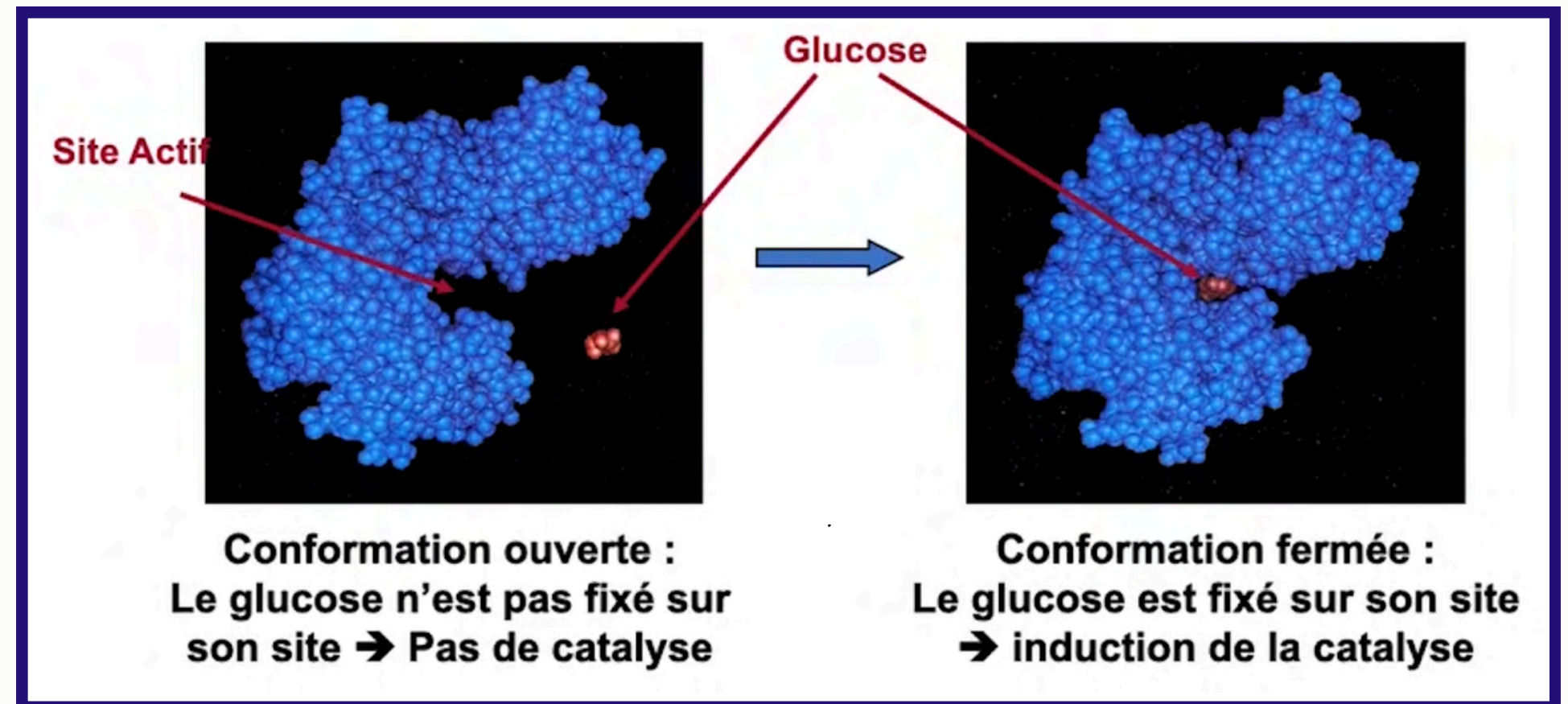
- Complémentaire au substrat dans son **état de transition**
- Le substrat induit **un changement conformationnel au site actif**
- Basé sur l'hypothèse **que la structure de l'enzyme se déforme**
- Modèle dynamique



Structure protéique des enzymes

Modèle de Koshland ou ajustement induit :

- Ex de l'**hexokinase**
- Transforme de le **glucose en glucose-6-P**
- Fixation du glucose = changement de conformation = **enzyme active**



Structure protéique des enzymes

Conclusion et mini récap :

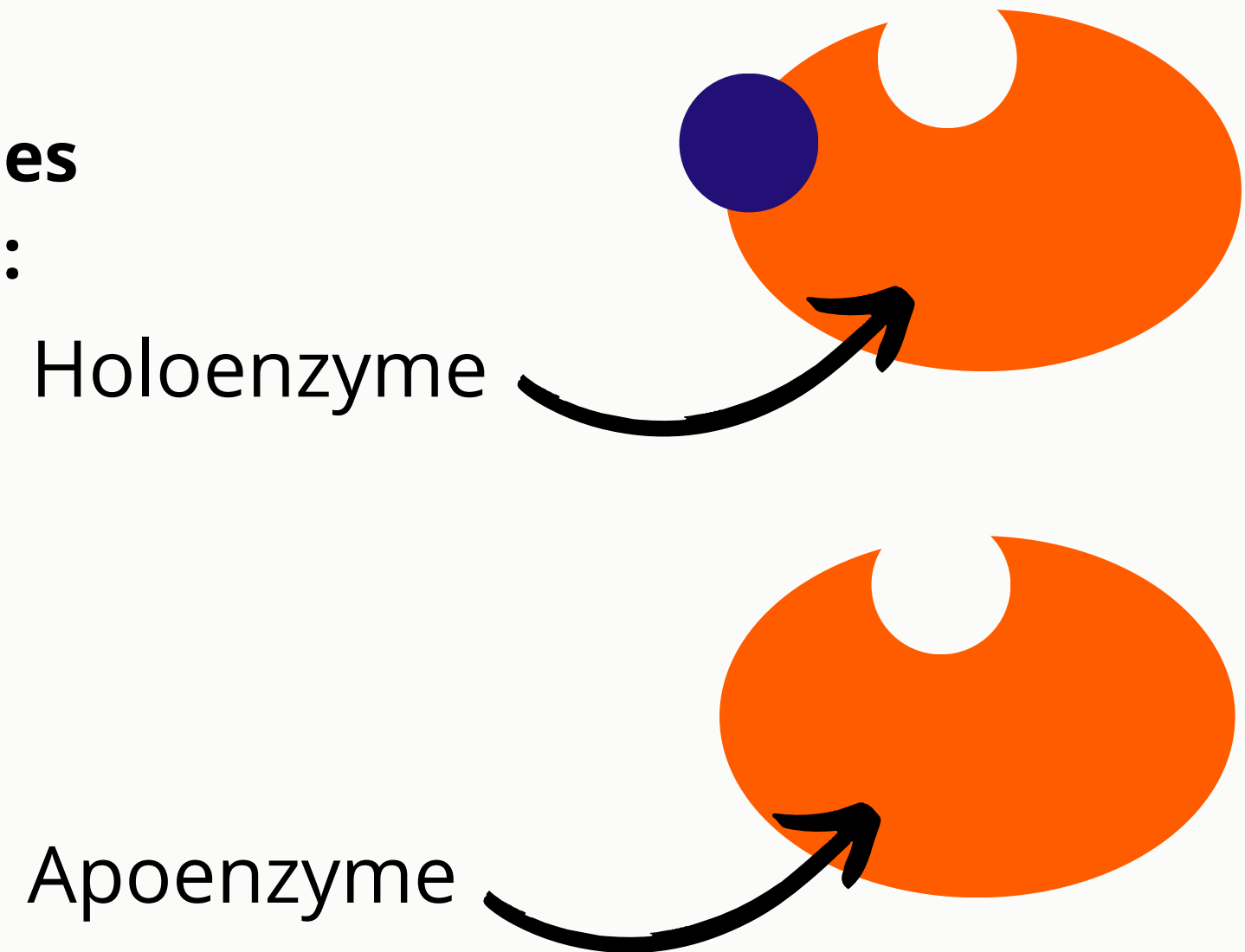
- Le site actif = **reconnaît et transforme le substrat**
- La **fixation du substrat** = **changement de conformation** de l'enzyme nécessaire au **déclenchement de la catalyse** (modèle Koshland)
- Le substrat lié au site actif par des **liaisons de faible niveau énergétique**
- **Seul** le substrat associé à l'enzyme subit la transformation chimique



Cofacteurs et coenzymes

Rappel du début du cours :

- Certaines enzymes sont uniquement protéiques
- D'autres ont besoin d'un cofacteur/coenzyme :
 - Holoenzyme : avec cofacteur = active
 - Apoenzyme : sans cofacteur = inactive



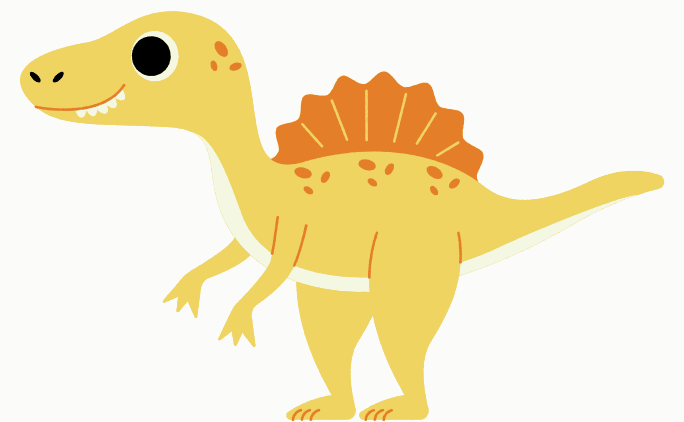
Cofacteurs et coenzymes

Les cofacteurs :

- Soit des ions métalliques divalents : Mg^{++} , Cu^{++}
- Soit molécule organique non protéique = coenzymes : NAD^+ , $NADP^+$, FAD, TPP...

Leurs rôles :

- **Les ions :**
 - **Transportent** ou **complètent** le substrat
 - **Participe** à la structure de la forme active de l'enzyme
- **Les coenzymes :**
 - **Transporter** un intermédiaire métabolique
 - **Accepter** un produit de la réaction



Cofacteurs et coenzymes



Les coenzymes :

- Les coenzymes sont **synthétisés** à partir d'**intermédiaires métaboliques**
- Si la synthèse n'est pas possible = tout ou partie provient de l'**alimentation** surtout de **vitamines**

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

L'ordre : **B1, B2, B3, PAS de B4, B5, B6, H**

Qui vont avec : **Thiamine, Riboflavine, Nicotinamide, Acide p., Pyridoxine, Biotine**

et on fait une phrase avec : "Tu **R**estes à **N**ice ? **A**h... t'as un **P**ro**B**lème ??"

B1 B2

B3

B5

B6 H

À vous de réfléchir !

- 1. Qu'est ce qu'une enzyme ? (nature, rôle, partie en contact du S, où ?...)**
- 2. Quelles sont les 6 classes d'enzymes ?**
- 3. Holoenzyme et Apoenzyme ?**
- 4. Différences entre EA et ET ?**
- 5. Les 4 AA du site actif ?**



C'est fini !

Posez toutes vos questions !



**Attention le cours n'est pas complet
c'est uniquement le programme pour la TTR
La fiche complète arrivera après**

