Chapitre I : Rappel sur l'enzymologie

Les enzymes constituent une structure « clef » pour des milliers de réactions biochimiques survenant chez tout être vivant, elles occupent une partie importante du génome humain, ce qui révèle leur grande diversité moléculaire ainsi que la grande importance de leurs fonctions au sein de notre organisme.

I. Notions de base

- **Enzyme**

Les enzymes sont des macromolécules protéiques dont la masse moléculaire varie de 10000 jusqu'à un million de daltons, ce sont des catalyseurs biologiques de réactions métaboliques qui interviennent dans diverses réactions de dégradation, ou de synthèse. Elles agissent à de très faibles concentrations sans modifier le résultat de la réaction et sans être changées.

- **Site actif**

C'est une cavité dans laquelle se fixe le substrat avec des liaisons chimiques faibles pour être transformé en un produit. Il est subdivisé en deux parties :

  - *Le site de fixation* : sa forme est complémentaire au substrat spécifique à l'enzyme, ce qui permet la fixation.
  - *Le site catalytique* : il catalyse la réaction pour transformer le substrat en produit.

- **Substrat**

Une molécule qui, sous l'action catalytique d'une enzyme, sera totalement transformée à la fin de la réaction.

- **Produit**

C'est la molécule qui résulte de la transformation d'un substrat dans une réaction enzymatique.

- **Cofacteur/ Coenzymes**

Ce sont des éléments dont la présence est positif/obligatoire dans la réaction enzymatique, ils interviennent pour transporter le substrat, recevoir le produit ou bien pour participer dans la structure de l'enzyme.

Les cofacteurs sont des composés chimiques : ions ou molécules minérales (exemples : Fe^{+2}, Mg^{+2}...), alors que les coenzymes sont des petites molécules organiques non protéiques (exemples : coenzymes nicotiniques NAD**,** coenzymes flaviniques FAD).

- **Inhibiteur**

Les inhibiteurs d'enzymes sont des substances qui affectent négativement l'action catalytique de l'enzyme et qui vont par conséquent la ralentir, ou bien l'arrêter. L'action inhibitrice peut se voir sur l'enzyme ou sur le substrat.

- **Inhibiteur irréversible** : l'inhibiteur se fixe sur le site actif de manière irréversible avec des liaison covalentes.
- **Inhibiteur compétitif** : l'inhibiteur présente une analogie structurelle avec le substrat. Une fois fixé, il empêche la catalyse.
- **Inhibiteur non compétitif** : l'inhibiteur se fixe sur un site de l'enzyme qui est spécifique à l'inhibiteur (pas d'analogie entre l'inhibiteur et le substrat).
- **Inhibiteur incompétitif** : il ne peut se fixer que sur le complexe enzyme-substrat, mais pas sur l'enzyme seule.

II. Classification des enzymes

Les enzymes se répartissent en sept classes en fonction des réactions qu'elles catalysent :

II.1. Oxydoréductases : Ce sont des enzymes qui catalysent les réactions d'oxydoréduction dont les oxydases, les déshydrogénases et les oxygénases.

II.2. Transférases : Les transférases sont des enzymes transférant un radical ou un groupe, (ex. groupements phosphates, amines, méthyle, etc), d'un composé donneur à un autre accepteur.

II.3. Hydrolases : Ces enzymes catalysent le clivage hydrolytique des liaisons C-O, C-N, C-C et certaines autres liaisons, la fonction naturelle de la plupart des hydrolases est digestive. Exemples : peptidases, lipases

II.4. Lyases : Les lyases sont des enzymes coupant des liaisons par élimination générant ainsi des doubles liaisons, ou au contraire elles ajoutent des groupes aux doubles liaisons. Exemple : la décarboxylase

II.5. Isomérases : Ces enzymes catalysent l'isomérisation, c-à-d, des modifications géométriques ou structurelles intramoléculaires. Les sous classes définissent le type d'isomérie.

II.6. Ligases : Les ligases sont des enzymes qui catalysent la jonction de deux molécules par la formation de liaisons de type : C-C, C-O, C-N, C-P et C-S, cette jonction est couplée à la rupture d'une liaison fournissant de l'énergie (généralement une molécule d'ATP).

II.7. Translocases : Les translocases catalysent la translocation des ions hydrogène, des cations et anions inorganiques, des acides aminés, des glucides ou d'autres composés.

III. Nomenclature

L'ancienne nomenclature d'enzymes était basée sur le nom du substrat sur lequel se fixe l'enzyme terminé par le suffixe « ase » qui désigne « enzyme ». Plus tard, des nomenclatures plus précises ont été mise en évidence afin d'éviter les confusions entre enzymes.

La nomenclature fonctionnelle est -actuellement- la plus couramment utilisée. Des mots génériques indiquant les types de réaction sont ajoutés au nom du substrat (ex : déshydrogénase, réductase, oxydase...)

D'autres informations sont nécessaires si l'enzyme utilise deux substrats :

- Le substrat donneur,
- Le substrat récepteur,
- Le radical échangé,
- La réaction catalysée.

Exemple : ATP-glucose phosphotransférase.

La nomenclature officielle est plus précise et plus descriptive, on associe à chaque enzyme un numéro de classification appelé "EC number" (EC pour Enzyme Commission), un numéro de la classe (de 1 à 7), un numéro de la sous-classe, un numéro de la sous-sous-classe et un numéro individuel de série dans la sous-sous classe. Le nom de l'enzyme est alors écrit comme suit :

$$EC\ X_1.X_2.X_3.X_4$$

Exemple :

Soit l'enzyme "6-phosphofructokinase" (nomenclature commune) qui catalyse la réaction suivante :

ATP + D-fructose 6-phosphate = ADP + D-fructose 1,6-bisphosphate

Nom fonctionnel : ATP:D-fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase

Sa nomenclature officielle est la suivante :

EC 2.7.1.11

- **EC**: Enzyme Commission
- X1 : **2** désignant la classe des transférases qui est la deuxième classe des enzymes
- X2 : **7** désignant la sous-classe des transférases transférant des groupements contenant un phosphore
- X3 : **1** : la première sous-sous-classe ou l'accepteur du groupement transféré est un alcool
- X4 : **11** : le numéro de série attribué.

IV. Propriétés des enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques très puissants qui diffèrent des autres catalyseurs par la spécificité, la diversité moléculaire, l'énergie d'activation faible et la possibilité de régulation de leur activité.

IV.1. La spécificité

Dans une réaction donnée, et grâce au site actif, une enzyme catalyse la transformation des mêmes substrats pour donner les mêmes produits, la spécificité est donc double : une spécificité d'action et une spécificité de substrat.

La spécificité d'une enzyme est de quatre types :

a. Une spécificité étroite : l'enzyme ne se lie que sur un seul substrat, ex : l'amylase salivaire ne fixe que l'amidon.
b. Une spécificité de groupe : l'enzyme agit sur des substrats qui ont des groupes fonctionnels spécifiques, tels que les groupes phosphate et méthyle.
c. Une spécificité de liaison : l'enzyme agit sur un type particulier de liaison chimique peu importe le reste de la structure moléculaire.

d. Une spécificité stéréochimique : l'enzyme différencie entre les isomères.

IV.2. Régulation de l'activité

L'activité enzymatique pourrait être régulée en fonction de « la disponibilité » en enzyme ; la quantité de l'enzyme dépend à la fois du taux de sa synthèse et de sa dégradation. Ces taux sont génétiquement contrôlés en réponse des modifications des conditions physiologiques soit par induction ou par répression de la synthèse d'enzyme.

Exemple : l'induction de la biosynthèse de la ß galactosidase en présence du lactose et sa répression en absence de ce substrat.

La catalyse au biais d'enzyme pourrait aussi être « régulable » par des modulateurs positifs ou négatifs qui peuvent affecter la réaction enzymatique : les activateurs augmentent l'activité et les inhibiteurs la diminuent ou bien l'arrêtent.

Ce contrôle d'activité enzymatique est très important dans notre organisme, par exemple, l'activité de la phosphofructokinase qui intervient dans la glycolyse chez les mammifères est contrôlée par deux modulateurs : l'AMP comme activateur et l'ATP comme inhibiteur, cette modulation permettra donc d'ajuster la vitesse de la glycolyse selon le besoin énergétique cellulaire.

Des molécules régulatrices appelées « effecteurs allostériques » affectent aussi l'activité enzymatique par activation ou inhibition, la molécule modulatrice se lie à l'enzyme sur un autre site qui est différent du site actif.

* la possibilité de réguler l'activité d'un catalyseur enzymatique positivement ou bien négativement est un facteur très important en génie enzymatique car il permet de jouer sur l'activité de l'enzyme utilisée selon la fin désirée.

II.3. Variété d'isoformes : les isoenzymes

Les isoenzymes sont des formes alternatives de la même activité enzymatique qui existent dans différents tissus. Ils diffèrent par la composition, la séquence des acides aminés et la structure quaternaire. Chaque forme d'isoenzyme présente des propriétés cinétiques et/ou régulatrices différentes qui reflètent son rôle dans ce tissu.

Exemple : la créatine kinase (CK) est une enzyme qui catalyse la phosphorylation réversible de la créatine en créatine phosphate. Elle est formée d'un dimère de sous unités : M (Musclaire) et B

(Brain : cerveau). IL existe quatre isoenzymes tissulaires de cette enzyme, dont trois sont cytosoliques composés à partir de différentes combinaisons des deux sous unités M et B : (CK-BB, CK-MB et CK-MM), celles-ci sont trouvées respectivement dans le cerveau, le cœur et le muscle. La quatrième isoenzyme est dite atypique (Macro-CK) et elle est encore mal connue.

II.4. Facteurs influençant l'activité enzymatique

La vitesse d'une réaction enzymatique est affectée par la concentration en enzyme et en substrat, et par la présence ou l'absence des effecteurs. Certains paramètres physicochimiques affectent aussi l'activité enzymatique : le pH et la température.

a. Effet du pH

Chaque enzyme fonctionne dans une plage de pH bien définie. L'effet de la variation du pH se voit sur l'enzyme et aussi sur le substrat. En effet, le changement du pH entraine des changements de liaisons intra- et intermoléculaires menant à la modification de la conformation de la protéine. La modification concerne la catalyse, le site de fixation et l'ionisation des groupements fonctionnels de l'enzyme.

b. Effet de la température

Dans une réaction enzymatique, l'augmentation de la température entraine l'élévation de l'énergie cinétique des molécules, ce qui augmente le taux de fixation enzyme-substrat.

Cette augmentation d'activité enzymatique est possible jusqu'à un certain seuil après lequel l'activité baisse jusqu'à dénaturation de l'enzyme.