**Chapitre 01. Généralités sur l’enzyme**

**Rappel**

Il est très difficile de donner une date exacte de la découverte des enzymes. Une activité hors d’une cellule vivante a été observée en 1783 lorsque Spallanzani nota que la viande était « liquéfiée » par le suc gastrique des faucons.

**Enzyme :** une molécule qui catalyse des réactions biochimiques.

* **Catalyseur** : il augmente la vitesse d’une réaction biochimique, sans modifier la constante d’équilibre en diminuant l’énergie d’activation.
* Il se retrouve **intact** à la fin de la réaction.
* Il est produit par **la cellule vivante** car tous les enzymes sont des protéines (sauf les ribozymes sont des ARN doués par activité catalytique).
* Il transforme un substrat donné (**spécifité du substrat)** par une réaction donné (spécifité **de la réaction**).
* Ils sont **régulables** : certains enzymes modifient leur activité catalytique en réponse à des signaux métaboliques ce qui permet d’ajuster le métabolisme.

**Substrat :** toute molécule réagit avec l’enzyme.

**Produit :** le résultat de la réaction catalytique entre enzyme-substrat.

**Co-enzyme** : cofacteur élément non protéiques, organiques présent au sein de l’enzyme indispensables pour la réaction ctalytique comme le NAD, la biotine.

**Co-facteur** : eléments minéraux indispensables pour la catalyse enzymatique comme le fer, le zinc.

**Effecteur :** molécule qui peut moduler l’activité enzymatique par augmentation ou diminution.

**L’activité enzymatique** est exprimée en unité internationale **(UI)** : la transformation d’une mole de substrat par minute.

Ou par **Katals (Kat)** : la transformation d’une mole de substrat par seconde.

**1. Nomenclature des enzymes :**

Le nom des premiers enzymes rappelait l’organe ou ils avaient été découvert comme la pepsine de *pepsis* « digestion », mais l’enzyme peut être dans plusieurs organe, le nom est formé par rapport au substrat catalysé suivi de la désinence « ase » comme peptidase. Et comme l’enzyme peut transformer plusieurs substrats, le nom de l’enzyme est fondé sur le nom du substrat et le type de réaction catalysé suivi par « ase » comme lactate déshydrogénase. Plus de 2000 enzymes sont découvert plus tard.

En 1961, L’union internationale de biochimie a décidé de mettre fin à cette confusion et édicté les règles de classification et de dénomination de l’enzyme en basant sur la spécifité de substrat et de l’action.

A chaque enzyme, on attribue un nom systématique qui identifie le substrat et la réaction catalysée et un numéro de classification à quatre chiffres précédé de la mention **EC** (enzyme commission). Ce numéro, constitué de quatre nombres désigne **la classe de réaction catalysée** par l’enzyme, **une sous-classe**, **une sous sous-classe** et **un numéro propre** à l’enzyme.

Les classes d’enzymes ainsi constituées sont au nombre de six :

1 – **Oxydoréductases** : enzymes qui catalysent les réactions d’oxydo-réduction. Les noms les plus courants de ces enzymes sont déshydrogénases, réductases et oxydases. Pour les oxydoréductases, il y a 24 sous-classes enzymatiques

Exemple : alcool déshydrogénase (E.C.1.1.1.1) :

Alcool +NAD+ Aldéhyde ou cétone + NADH

2 – **Transférases** : enzymes qui catalysent le transfert d’un groupe spécifique d’une molécule à une autre. Les noms les plus retrouvés pour ces enzymes sont transférases, polymérases.

Exemple : hexokinase (E.C.2.7.1.1)

ATP + Hexose ADP + Hexose 6-P

3 – **Hydrolase** : enzymes qui catalysent la coupure hydrolytique des liaisons C—O, C—N et C—C. les noms obtenus pour cette catégorie d’enzymes sont protéases, lipases ou glucidases.

Exempl  : l’ α–-amylase (E.C.3.2.1.1) hydrolyse des liaisons 1,4— α —D-glucosidiques dans des polysaccharides contenant 3 ou plus D-glucose.

4 – **Lyase** : enzymes qui coupent les liaisons C—C, C—O et C—N par élimination, en formant des doubles liaisons ou des cycles. Les noms les plus communs de ces enzymes sont

décarboxylases, aldolases, déshydratases ou synthases. Pour les lyases, 8 sous-classes sont établies.

Exempl  : pyruvate décarboxylase (E.C.4.1.1.1)

2 – oxoacide aldéhyde + CO2

5 – **Isomérases**: enzymes qui catalysent des changements géométriques ou structuraux dans une molécule. Exemple : la glucose-isomérase (E.C.5.3.1.5) catalyse l’isomérisation du glucose en fructose.

6 – **Ligases**: enzymes qui catalysent la liaison entre deux molécules, couplée à l’hydrolyse d’une liaison phosphate de l’ATP (ou un autre tri-phosphate). Exemple : pyruvate carboxylase (E.C.6.4.1.1)

ATP + Pyruvate + HCO-3 ADP + PO-4 + oxaloacétate

**7. Translocases :** catalyse le mouvement des ions à travers la membrane comme le cytochrome c oxidase EC7.1.1.9.

[**https://enzyme.expasy.org/**](https://enzyme.expasy.org/)(lien utile pour chercher le code de l’enzyme ou l’inverse).

**2. Classification des enzymes CAZy ( Carbohydrate Active enZymes )**

Cette classification a pour originalité de ne pas reposer sur une spécificité réactionnelle des enzymes, comme la classification de la nomenclature enzymatique. Elle repose sur une analogie de structure des modules catalytiques et de reconnaissance de motifs glucidiques des enzymes qui catalysent la dégradation, la modification ou la création de liaisons osidiques. Elle a été établie par Bernard Henrissat et peut être consultée sur le site : http://www.cazy.org/.

Cette classification repose sur une étude de la séquence d’acides aminés d’une enzyme, séquence qui conditionne la structure secondaire et tridimensionnelle de la protéine enzymatique.

La classification CAZy est divisée en cinq parties :

1 – ***Glycoside Hydrolases*** (GH) : Les Glycoside-Hydrolases (EC 3.2.1.-) constituent un vaste groupe d’enzymes qui catalysent l’hydrolyse de liaisons osidiques associant un ose à un autre ose ou à une molécule non osidique. Le mécanisme de la réaction d’hydrolyse d’une liaison osidique fait généralement intervenir deux résidus d’acides aminés jouant un rôle catalytique, un acide (donneur de protons) et une base (nucléophile). Suivant la disposition spatiale de ces deux acides aminés, l’hydrolyse s’effectue avec rétention ou inversion de l’anomérie de la liaison osidique. Dans certains cas, le groupe nucléophile n’est pas porté par l’enzyme et est remplacé par un groupe acétamido en position C—2 du substrat. Enfin, certaines glycosi-dases utilisent le NAD + comme cofacteur ;

2 – ***Glycosyl Transférases*** (GT) : La biosynthèse des liaisons glycosidiques implique des enzymes (EC 2.4.-.-) capables de catalyser le transfert spécifique d’un ose d’un intermédiaire activé (donneur : nucléotide-diphospho sucre, nucléotide monophospho sucre, sucre-phosphate) sur une autre molécule (accepteur). Ce transfert peut s’effectuer avec rétention ou inversion de la configuration anomérique initiale ;

3 – ***Polysaccharide Lyases*** (PL) : La rupture des liaisons osidiques par un mécanisme de β -élimination est catalysée par les *Polysaccharide Lyases* (EC 4.2.2.-). Cette réaction s’accompagne de la formation d’une double liaison au niveau de la nouvelle extrémité non réductrice ainsi générée ;

4 – ***Carbohydrate estérases*** (CE) : Ces estérases catalysent la O- ou la N-désacétylation des glucides. Deux groupes de substrats sont distingués, suivant que la partie acyle (cf. pectine méthyl esters) ou la partie alcool (cf. xylane acétylé) de l’ester provient du glucide. Le mécanisme réactionnel le plus courant fait intervenir une triade catalytique Sérine-Histidine-Acide aspartique, mais on rencontre également des enzymes à zinc (Zn 2+ ) ;

5 – ***Carbohydrate-binding modules*** (CBM) : Les « modules de liaison au glucide » sont des éléments de la structure d’enzymes capables de se lier spécifiquement à un glucide, sans présenter d’activité catalytique propre. On peut citer les domaines de liaison à la cellulose ( *cellulose-binding domains* ), par exemple. Ces modules sont classés au sein de treize familles, suivant leurs caractéristiques structurales.

**3. Sources enzymes**

Les enzymes peuvent être extraites de n’importe quel organisme vivant : des bactéries aux champignons, des plantes aux animaux. Parmi toutes les enzymes utilisées industriellement, plus de la moitié proviennent de champignons ou de levures, environ un tiers sont d’origine bactérienne et ce qui reste se divise entre les sources animales (8 %) ou végétales (4 %).

La très grande majorité des enzymes utilisées dans l’industrie provient donc de la culture de micro-organismes pour diverses raisons : faible coût de production, teneur en enzyme mieux contrôlable, composition des extraits connue et constante.

**4. Cinétique enzymatique** :

Ensemble des méthodes qui permet de mesurer la catalyse enzymatique.

* Les enzymes accélèrent les réactions en diminuant l'énergie libre d'activation (car plus elle est élevée et plus la réaction est lente).

**Phase de la réaction enzymatique**

**1/ phase pré-stationnaire :** Une phase pré-stationnaire (très rapide, quelques millisecondes) est fondée sur l’affinité du substrat pour le site actif de l’enzyme. Cette phase initiatrice de mise en route du système se termine lorsque les sites actifs ont fixé et transformé les premières molécules de substrat.

**2/ La phase stationnaire** : dure quelques minutes au cours des tests calibrés. Durant cette phase, la quantité [ES] est stable. un équilibre dynamique dans lequel autant de molécules de substrat se fixent à l’enzyme que de molécules de produit formé s’en dissocient.

**3/ une phase post-stationnaire** de quelques minutes également, pendant laquelle le nombre de complexes [ES] diminue, directement en relation avec l’épuisement en substrat.

**Phases de la réaction enzymatique**

**5. Vitesse de la réaction**

La vitesse instantanée d’une réaction enzymatique correspond à la mesure de la quantité disparue de substrat par unité de temps ou la quantité de produit apparu par unité de temps.

Elle est proportionnelle à la concentration du substrat.

V= =

Pour des concentrations de [E] et de [S], On mesure la quantité du produit en fonction du temps : La courbe P=f(t) est :

* Linéaire ascendante : l’enzyme est saturée par son substrat, la vitesse est constante
* Puis s’infléchit : la vitesse décroit car l’enzyme n’est plus saturé par le substrat.
* Devient horizontale : la vitesse est nulle car l’équilibre de la réaction est atteint.

A l’instant t, v= tg α , à l’instant t0=tg α0 (vitesse initiale).

**6. Vitesse initiale**

C’est la vitesse d’une réaction au cours d’une phase stationnaire ou l’enzyme est saturé par son substrat.

La vitesse initiale est la vitesse étudiée.

**Influence de la concentration de substrat et de l’enzyme sur la vitesse initiale**

Plus la concentration de substrat augmente, la vitesse initiale augmente.

Plus la concentration de l’enzyme augmente, la vitesse initiale augmente.