

## 1. Historique

Il est difficile de situer exactement la découverte de la notion d'enzyme en tant que seul catalyseur des réactions chimiques qui se déroulent dans les organismes vivants.

Au 18<sup>e</sup> siècle, **L. Spallanzani** a rapporté en **1783** que la viande est liquéfiée par un extrait gastrique.

Au 19<sup>e</sup> siècle, **Kirchoff** a observé en **1814** qu'un composant glutineux de blé convertit l'amidon en sucre. Mais c'est **A. Payen** et **J.F. Persoz** qui ont fait l'extraction d'une solution non purifiée de diastase (amylase) à partir de malt en **1833**. Une année après, **T. Schwan** a pu purifier partiellement le premier agent actif d'origine animale : la pepsine. De **1858** à **1871**, les travaux de **Pasteur** et de **Buchener** ont permis d'obtenir un extrait de levure responsable de la fermentation alcoolique appelée ferment. Dans la même époque (**1860**), **Berthelot** a pu obtenir un extrait actif convertissant le sucrose en glucose et fructose appelé invertase. En **1878**, **Kuhn** introduit le terme « enzyme » qui signifie dans la levure.

Au début du 20<sup>e</sup> siècle, de gros travaux furent entrepris pour purifier des enzymes et surtout décrire leur activité catalytique en termes mathématiques. En **1905**, **Henri, Michaelis** et **Menten** puis **Briggs** et **Haldane** développèrent la cinétique enzymatique. Mais en raison des difficultés techniques, ce n'est qu'en **1926** que **J.B. Sumner** a pu purifier et cristalliser l'uréase extraite d'haricot.

En **1958**, **Daniel Koshland** proposa le modèle de l'ajustement induit (le substrat induit un changement conformationnel du site actif de l'enzyme) ;

En **1963**, **Wallace Cleland** proposa une procédure claire et uniforme pour écrire les équations des cinétiques des systèmes enzymatiques à plusieurs substrats ;

En **1965**, **Jacques Monod**, **Jeffries Wyman** et **Jean-Pierre Changeux** proposèrent un modèle cinétique (modèle MWC) pour les enzymes allostériques ;

En **1966**, **Daniel Koshland**, **George Nemethy** et **David Filmer** généralisèrent le modèle précédent en incluant la notion d'ajustement induit proposée par Daniel Koshland (modèle KNF) ;

En **1972**, **Christian Anfinsen** a démontré le lien entre la séquence en acides aminés et la conformation biologiquement native-active de la ribonucléase. Alors que **Stanford Moore** et **William Stein** ont démontré le lien entre la structure chimique et l'activité catalytique du centre actif de la ribonucléase ;

**Ron Laskey (1978)** et **John Ellis (1987)** ont découvert le processus impliquant les protéines dites «chaperonnes» (Ces protéines aident au repliement d'autres protéines ou les maintiennent dans la conformation native quand la cellule est soumise à certains stress).

### **Définition :**

Les enzymes sont des catalyseurs des réactions chimiques qui se produisent chez les êtres vivants. Ce sont des macromolécules protéiques qui accélèrent les réactions sans formation de produits parasites et elles fonctionnent dans des conditions moyennes de température et de pH.

Les enzymes sont les unités fonctionnelles du métabolisme cellulaire intervenant en séquences organisées. Elles catalysent les centaines d'étapes réactionnelles par lesquelles les molécules de nutriments sont dégradées, l'énergie chimique est conservée et transformée, les macromolécules cellulaires sont synthétisées à partir de précurseurs simples.

## 2. Classification des enzymes

La nomenclature, ou classification, des enzymes est très utile ; car connaître le nom d'une enzyme, c'est déjà savoir le type de réaction catalysée et le substrat. En fait, il existe plusieurs règles de nomenclature des enzymes :

### 2. 1. Nomenclature :

#### 2. 1.1. Nomenclature traditionnelle :

Au début, on a attribué aux enzymes des noms traditionnels qui évoquaient souvent l'organe dans lequel on les avait trouvés.

Pepsine : enzyme du suc gastrique (estomac).

Zymase : enzyme de l'extrait de levure.

Ultérieurement, on a utilisé le suffixe "**ase**" avec le nom du substrat.

Peptide : peptidase.

Lipide : lipase.

Oside : osidase.

#### 2. 1. 2. Nomenclature fonctionnelle :

Elle est très utilisée. Elle prend en compte les deux types de spécificité : le substrat et le type de réaction catalysée. En effet, pour désigner une enzyme on indique d'abord le nom du substrat, puis le type de réaction catalysée et on ajoute le suffixe "**ase**".

**Glucose-6-phosphate isomérase.**

**Isocitrate lyase.**

**Pyruvate carboxylase.**

Lorsque l'enzyme utilise deux substrats, on les désigne tous les deux en indiquant le substrat donneur de radicaux, puis celui du substrat accepteur du radical, le nom du radical échangé, le type de réaction et on ajoute le suffixe "**ase**".

**ATP-glucose phosphotransférase.**

**UDPglucose-fructose glucosyltransférase.**

**Glutamate pyruvate aminotransférase.**

Dans le cas d'une réaction équilibrée réversible, on peut former les noms à partir des substrats ou des produits.

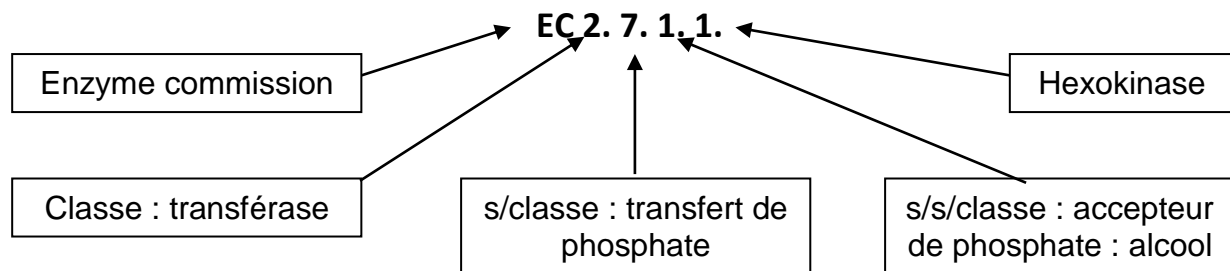
#### 2. 1. 3. Nomenclature officielle :

À partir de 1961, l'Union Internationale de Biochimie (IUB) a décidé de tenir un registre de toutes les enzymes parfaitement caractérisées et de leur attribuer un numéro de classification systématique portant quatre nombres séparés par des points et précédés de EC soit (EC  $X_1.X_2.X_3.X_4$ ) :

1. Le premier chiffre pouvant varier de 1 à 6 désigne la classe de l'enzyme qui dépend du type de la réaction catalysée.

2. Le 2<sup>e</sup> nombre désigne la sous-classe de l'enzyme qui est définie suivant son mécanisme d'action (la nature du substrat ou parfois le groupement transféré).
3. Le 3<sup>e</sup> nombre désigne la nature de la molécule qui sert d'accepteur lorsqu'il s'agit d'un transfert.
4. Le dernier nombre est un numéro d'ordre donné à chaque découverte de nouvelle enzyme. Lorsqu'une enzyme se termine par 99, cela signifie qu'elle est incomplètement caractérisée.

Exemple **ATP-hexose-6-phosphotransférase** (nom systématique formel).



## 2. 2. Classification :

### 2. 2. 1. Les oxydoréductases :

Les réactions d'oxydoréduction sont des réactions équilibrées et caractérisées par une circulation d'électrons. Elles sont soit des réactions de fixation d'oxygène, soit de départ d'hydrogène, soit de départ d'électron. Elles sont les plus fréquentes en biochimie et leur importance est due à leur relation avec les échanges énergétiques. Ces enzymes fonctionnent avec des coenzymes divers ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ ,  $\text{FAD}$ ,  $\text{FMN}$ ) qui se comportent comme des accepteurs intermédiaires et transitoires des électrons.

Les oxydoréductases peuvent être :

**Déshydrogénases (réductases)** : enzymes qui enlèvent à leur substrat des atomes d'hydrogène ou des électrons.

**Oxydases** : enzymes dont l'accepteur d'électrons est l'oxygène moléculaire.

**Oxygénases** : enzymes qui utilisent l'oxygène moléculaire pour modifier un substrat par incorporation d'oxygène (mono, dioxygénases).

### 2. 2. 2. Les transférases :

Elles transfèrent des radicaux ou des groupes d'atomes d'une molécule donneuse à une molécule receveuse. Dans beaucoup de cas, l'enzyme fonctionne avec un coenzyme qui fixe le radical à transférer de façon intermédiaire.

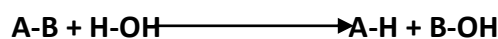
Les groupes pouvant être transféré :

1. Méthyl ( $-\text{CH}_3$ ) : méthyltransférase.
2. Hydroxyméthyl ( $-\text{CH}_2\text{OH}$ ).
3. Carboxyl ( $-\text{COO}^-$ )

4. Groupement carboné comportant une fonction aldéhyde (R-CHO).
5. Acyl (R-CO-).
6. Osidyl.
7. Amine (-NH<sub>2</sub>).
8. Phosphoryl (-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>) : phosphotransférase = kinase.
9. Sulfuryl (-SO<sub>3</sub>H) : sulfotransférase.

### 2. 2. 3. Les hydrolases :

Sont des enzymes de dégradation sans coenzymes. Elles provoquent le clivage d'une molécule en deux en fixant les éléments d'une molécule d'eau sur les valences libérées :



Les principales liaisons qui peuvent être coupées sont :

1. Les éthers R-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-R'
2. Les acétals ou hémiacétals ose-O-alkyl.
3. Les esters d'acide carboxylique R-COO-CH<sub>2</sub>-R'
4. Les esters phosphoriques R-CH<sub>2</sub>-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>
5. Les esters sulfuriques R-CH<sub>2</sub>-O-SO<sub>3</sub>H
6. Les anhydres d'acides R-COO-CO-R'
7. Les liaisons O-O (peroxydes).
8. Les liaisons C-N des fonctions amine, amide, imine et surtout les liaisons peptidiques (-CO-NH-).

### 2. 2. 4. Les lyases :

Catalysent le déplacement d'un groupement à partir d'un substrat avec apparition d'une double liaison sur ce substrat. Il existe :

**Les carboxy-lyases** : enzymes qui séparent ou fixent le radical (-COO<sup>-</sup>). On trouve les carboxylases et les décarboxylases.

**Les acyl-lyases** : enzymes condensant des acyls à partir des acétylcoenzyme A (appelées aussi synthases).

**Les lyases clivant la liaison C-O** : sont les enzymes qui enlèvent une molécule d'eau en faisant apparaître une double liaison (appelées aussi déshydratases).

**Les lyases clivant la liaison C-N.**

### 2. 2. 5. Les isomérases :

Elles catalysent le transfert des groupements à l'intérieur d'une molécule avec formation d'isomères (isomérisation). On trouve :

**Epiméras** : catalysent les changements de conformation d'un carbone asymétrique.

**Isoméras cis-trans** : agissent sur les radicaux fixés aux carbones d'une double liaison.

**Dismutases** : sont des oxydoréductases intramoléculaires catalysant le transfert interne d'atome d'hydrogène.

**Transférases intramoléculaires** : déplacent des radicaux à l'intérieur d'une molécule.

### 2. 2. 6. Les ligases (synthétases) :

Sont des enzymes formant des liaisons telles que : C-C, C-O, C-N, C-P et C-S pendant l'hydrolyse simultanée d'un groupe pyrophosphate fournissant l'énergie contenu le plus souvent dans une molécule d'ATP.

### 2.2.7. Les translocases :

Cette classe a été ajoutée en septembre **2018**. Ces enzymes catalysent la translocation des protons (H<sup>+</sup>), des cations et anions inorganiques, des acides aminés et des peptides, des hydrates de carbone et leurs dérivés. Ces enzymes catalysent le mouvement des molécules ou des ions à travers les membranes cellulaires en général.

## 3. Propriétés générales

Les enzymes possèdent toutes les propriétés des protéines. Leur activité catalytique dépend de l'intégrité de leur structure primaire, secondaire et tertiaire en tant que protéines.

### 3. 1. Spécificité et stéréospécificité :

Dans une réaction enzymatique, la molécule de substrat doit avoir deux caractéristiques structurales distinctes :

1. La liaison chimique spécifique qui peut être attaquée par l'enzyme.
2. Un autre groupe fonctionnel (groupe de liaison) qui se lie à l'enzyme et positionne le substrat de façon correcte sur le site, de telle sorte que la liaison cible soit précisément localisée par rapport au groupe catalytique de l'enzyme.

#### 3. 1. 1. Spécificité de réaction :

C'est la propriété la plus significative des enzymes. Elle permet la régulation de la vitesse des processus métaboliques par un changement dans l'efficacité catalytique. Cette propriété est uniquement déterminée par l'apoenzyme (protéine enzymatique).

#### 3. 1. 2. Spécificité de substrat :

Il existe deux types de spécificité enzymatique vis-à-vis du substrat :

Spécificité étroite :

Dans ce cas, l'enzyme possède une spécificité optique (pouvoir rotatoire du substrat) et géométrique ; donc on parle de stéréospécificité. Ainsi, l'enzyme reconnaît et forme un seul type d'isomères lorsqu'une molécule peut en porter plusieurs. Elle reconnaît en précision les détails moléculaires dans l'espace ainsi que l'orientation des substituants d'un atome de carbone (exemple : aspartase).

Spécificité large :

Dans ce cas, il existe des enzymes possédant une spécificité relativement large et agissent sur de nombreux composés qui partagent une caractéristique structurale.

Exemple :

La chymotrypsine catalyse l'hydrolyse de nombreux peptides mais ne clive que des liaisons peptidiques dans lesquelles le carbonyle est fourni par l'un des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tyrosine ou tryptophane).

**3. 2. Site actif :**

Le site actif (ou le centre actif) d'une enzyme est une petite zone de la protéine enzymatique dont la géométrie a une importance sur la spécificité.

Il est situé dans une zone hydrophobe (apolaire) dans la partie interne de la structure. Il assure deux fonctions :

- ✓ Fixation du substrat (site de fixation) ;
- ✓ Transformation du substrat (site catalytique).

Sur le plan structural, le site actif est formé d'un nombre restreint d'acides aminés dont les chaînes latérales participent directement à des échanges d'électrons ou de radicaux avec le substrat. Le site actif est constitué de quelques acides aminés qui ne sont pas forcément situés sur une même chaîne polypeptidique (repliement dû à la structure tertiaire) et qui se divisent en deux groupes :

- Acides aminés de reconnaissance spatiale (de liaison).
- Acides aminés de transformation chimique (catalytique).

La reconnaissance est assurée par complémentarité entre surface du site actif et surface du substrat, grâce à la proximité entre elles, ce qui permet l'échange de liaisons non covalentes (liaisons hydrogène, forces de Van der Waals, liaisons hydrophobes).

Le site actif des enzymes monomériques est souvent localisé dans une infractuosité (poche) de l'enzyme alors que celui des enzymes multimériques peut être localisé à l'interface entre sous-unités.

### **3. 3. Energie d'activation :**

#### **3. 3. 1. Généralités :**

La théorie cinétique ou théorie des collisions de la cinétique chimique comporte 2 concepts clés :

1. Seules les molécules qui entrent en collision peuvent réagir. Ce sont des molécules séparées par une distance qui permet la formation de liaison.
2. Pour chaque réaction, il existe une barrière d'énergie qui doit être dépassée pour qu'elle puisse se produire.

En fait, pour qu'une collision provoque une réaction les molécules réagissantes doivent posséder suffisamment d'énergie pour vaincre cette barrière énergétique.

La transformation d'un système (substrat) implique un état de transition représenté par deux réactions partielles, chacune comportant un changement caractéristique de l'énergie :

1. Formation de l'état de transition.
2. Déclin de cet état de transition.

#### **3. 3. 2. Définition :**

L'énergie d'activation ( $E_a$ ) : c'est l'énergie que doivent absorber les molécules du réactif pour réagir ; donc c'est la barrière de potentiel que doit franchir le réactif afin que la réaction ait lieu.

#### **3. 3. 3. Enzymes et énergie d'activation :**

En général, un catalyseur n'accélère que des réactions thermodynamiquement possibles (celles qui se traduisent par une diminution d'énergie).

Ainsi, l'enzyme augmente la vitesse d'une réaction en diminuant l'énergie d'activation ( $E_a$ ).

Elle abaisse la barrière énergétique ( $\Delta G^*$ ) que le substrat doit franchir ; donc elle facilite le passage à l'état de transition (complexe activé). En fait, en présence d'enzyme, une grande proportion des molécules d'un système sera capable de réagir sachant que ces molécules ne sont pas toutes dans le même état énergétique.

Donc, l'enzyme offre à la réaction un chemin différent et plus accessible que celui emprunté en son absence.

#### **3. 3. 4. Mécanisme :**

- L'architecture de l'enzyme rend possible la transformation catalytique.
- La structure tertiaire de l'enzyme permet la circulation des électrons ou des protons dans des sortes de canaux formés de résidus d'acides aminés chargés, entourés et isolés électriquement par des zones apolaires.
- La combinaison enzyme-substrat crée une nouvelle voie de réaction dont l'énergie de l'état de transition est plus basse que celle de la voie qu'emprunterait la réaction si elle avait lieu en absence d'enzyme.

- Les acides aminés de l'enzyme situés tout autour du substrat participent dans la catalyse en modifiant sa répartition électronique ; ce qui permet tout les types possibles de réaction.

### **3. 4. Les effecteurs enzymatiques :**

La vitesse d'une réaction enzymatique dépend à la fois de :

1. La concentration en enzyme.
2. La concentration en substrat présent dans le milieu réactionnel.
3. La présence ou l'absence des effecteurs.

Ces derniers jouent un rôle primordial, *in vivo*, car ils agissent et adaptent le fonctionnement des enzymes à leur environnement biologique. Ils sont, aussi, efficaces par leur intervention dans l'étude expérimentale des enzymes en dehors des organismes vivants.

#### **3. 4. 1. Température :**

L'élévation de la température accroît la vitesse d'une réaction enzymatique mais dans un intervalle très limité à cause de :

1. L'augmentation du nombre de molécules qui sont à l'état activé.
2. L'augmentation de la probabilité de combinaison entre enzyme et substrat.

Le facteur qui conduit à l'augmentation de la vitesse d'un processus biologique suite à une élévation de température de l'ordre de 10°C est appelé le **Q<sub>10</sub>** (coefficient de température).

#### **3. 4. 2. pH :**

Le pH affecte l'état d'ionisation de l'enzyme et celui du substrat. Par conséquent, les vitesses des réactions enzymatiques sont sensibles aux variations du pH dans la zone [2,11]. Le pH modifie :

1. Les liaisons hydrogènes, les liaisons ioniques ou les forces de Van der Waals qui unissent le substrat au site actif.
2. Les forces unissant les monomères des enzymes oligomériques.
3. Les conditions de transport des électrons ou de protons à l'intérieur de l'enzyme.

#### Comportement des enzymes vis-à-vis du pH :

1. Certaines enzymes sont peu influencées par les variations du pH telle que l'amylase salivaire.
2. Certaines enzymes agissent dans une zone étroite de pH telles que : pepsine, trypsine.
3. Certaines d'autres, catalysant des réactions réversibles, ont un pH optimum différent lorsqu'elles agissent dans un sens ou dans l'autre.



### 3. 4. 3. Les inhibiteurs :

L'inhibition de l'activité enzymatique, par de petites molécules ou des ions, joue le rôle d'un mécanisme de contrôle essentiel des systèmes biologiques (régulation des voies métaboliques par rétro-inhibition).

Sur le plan expérimental, l'inhibition enzymatique peut être source d'information sur le mécanisme d'action des enzymes ainsi que la spécificité pour un substrat : les résidus essentiels pour la catalyse peuvent être identifiés en utilisant des inhibiteurs spécifiques.

### 3. 4. 4. Les effecteurs allostériques :

- Le fonctionnement des enzymes allostériques est contrôlé par des effecteurs : activateurs ou inhibiteurs. Ces derniers peuvent être de petites molécules différentes du substrat. Ils peuvent être des molécules organiques ou des ions minéraux ( $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Ni}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Co}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{++}$  ou  $\text{Fe}^{+++}$ ,  $\text{Mo}^{4+}$ ).
- Ils ont un site de fixation distinct.
- Ils entraînent un changement de conformation successif des sous unités en produisant l'augmentation de l'activité enzymatique (cas des activateurs).
- Dans certains cas, le substrat se fixe à l'enzyme en formant un complexe commun avec l'activateur.