

## STRUCTURES ET MECANISME D'ACTION DES ENZYMES

### DEFINITIONS :

**1. Enzyme** : protéine présentant des propriétés de **catalyse spécifique** d'une **réaction chimique (biocatalyseur)** dans les **conditions compatibles** avec la vie (température, pression, concentrations).

-Etant des protéines, les enzymes sont douées de toutes les propriétés physicochimiques de celles-ci : thermolabiles, amphotères...

-Les protéines enzymatiques sont synthétisées par des êtres vivants. Cette synthèse est déterminée génétiquement.

Chaque enzyme est le produit de l'expression d'un gène parfois de deux gènes. -Les protéines enzymatiques sont des **catalyseurs** :

\*Elles **augmentent la vitesse** des réactions biochimiques, sans **en modifier la constante d'équilibre** (d'un facteur  $10^6$  à  $10^{12}$ ) en **diminuant l'énergie libre d'activation**.

\*Elles agissent à de **très faibles concentrations** sans en modifier le résultat.

\*A la fin de la réaction, la structure de l'enzyme se retrouve **inchangée** (intacte)

**2. Substrat** : molécule qui entre dans une réaction pour y être transformée grâce à l'action catalytique d'une enzyme

**3. Produit** : molécule qui apparaît au cours d'une réaction catalysée par une enzyme

**4. Ligand** : Corps chimique ayant une liaison spécifique avec une enzyme



**5. Site actif** : représente la partie de l'enzyme qui fixe le substrat

### CLASSIFICATION DES ENZYMES :

Selon les réactions catalysées, les enzymes peuvent être classées dans six grandes familles :

**1. Oxydoréductases** : catalysent des transferts d'électrons et de protons d'un donneur à un accepteur

La plupart de ces enzymes sont des déshydrogénases, d'autres sont des oxydases, des peroxydases, des réductases...

Exemple : lactate déshydrogénase : lactate + NAD<sup>+</sup> → pyruvate + NADH, H<sup>+</sup>

**2. Transférases** : catalysent les transferts de groupements d'une molécule à une autre

Exemple : phosphofruktokinase : fructose-6-P + ATP → fructose-1,6-bi-P + ADP

**3. Hydrolases** : catalysent des réactions d'hydrolyse (coupure des liens C-C, C-O, C-N et autres par de l'eau).

Exemple : α-amylase : amidon → dextrines → maltose

**4. Lyases** : catalysent l'addition ou l'enlèvement de groupes à des liens doubles

Exemple : fumarase : L-malate  $\longrightarrow$  fumarate + H<sub>2</sub>O

**5. Isomérase** : catalysent le transfert de groupes dans une même molécule pour produire des formes isomères

Exemple : glucose-6-Phosphate isomérase : D-glucose-6-P  $\longrightarrow$  D-fructose-6-P

**6. Ligases** : forment des liens C-C, C-S, C-O et C-N lors de réactions de condensation couplées à l'utilisation d'ATP

Exemple : butyryl-CoA ligase : butyrate + HS-CoA + ATP  $\longrightarrow$  butyryl-CoA + AMP + PPi

## NOMENCLATURE :

Chaque enzyme se voit attribué :

- Un numéro de code
- Un nom systématique
- Un nom commun recommandé

**1. Le numéro de code** : chaque enzyme est assignée d'un code à quatre chiffres par la Commission des Enzymes (E.C) de l'Union Internationale de Biochimie Moléculaire (I.U.B)

### Nom de l'enzyme (EC W.X.Y.Z)

C'est un numéro de code à 4 chiffres séparés par des points :

EC-système numérique de la commission des enzymes

Le 1<sup>er</sup> chiffre indique la classe à laquelle l'enzyme appartient

Le second précise la sous-classe

Le troisième la sous-sous-classe

Le quatrième chiffre indique le numéro d'ordre de l'enzyme dans la sous-sous-classe

**2. Le nom systématique** : ce nom précise la nature du donneur, la nature de l'accepteur et le type de réaction catalysée

Exemples : L-lactate : NAD oxydoréductase

L-lactate + NAD<sup>+</sup>  $\longrightarrow$  pyruvate + NADH, H<sup>+</sup>

L-aspartate : 2-oxoglutarate aminotransférase

L-aspartate + 2-oxoglutarate  $\longrightarrow$  oxaloacétate + L-glutamate

**3. Le nom commun recommandé** : c'est l'appellation consacrée par l'usage, désigné souvent sous forme d'abréviation

Exemples : Glucokinase (GK), Lactate déshydrogénase (LDH), Aspartate aminotransférase (ASAT)

**Exemple : EC 2.7.1.X**

**2** : c'est une transférase

**7** : le groupement transféré contient du phosphore

**1** : le groupement accepteur a une réactivité alcool

**Donc c'est la famille des Phosphotransférases avec un groupe alcool comme accepteur**

X : c'est le numéro de l'enzyme dans cette famille

**Quand X = 1 = la *hexokinase* (EC 2.7.1.1)**

**Réaction:** ATP + D-hexose = ADP + D-hexose 6-phosphate

**Nom systématique:** ATP: D -hexose 6-phosphotransférase

**Nom commun recommandé :** hexokinase (HK)

**STRUCTURE DES ENZYMES** : On distingue :

1) **L'Holoprotéine** : Ces enzymes sont de nature purement protéique

- Certains sont des holoprotéines monomériques (ex : la ribonucléase à 124 résidus d'AA, PM=13700Da) - D'autres sont oligomériques (ex : la lactate déshydrogénase à 4 protomères, PM=150000Da)

2) **L'Hétéroprotéine** :

La partie protéique d'une enzyme est l'*apoenzyme* et la partie non protéique est le *cofacteur* ou la *coenzyme*.

**Hétéroprotéine = Holoenzyme = apoenzyme + cofacteur**

2.1) **Apoenzymes** : cette partie protéique peut adopter une structure primaire, secondaire, tertiaire ou quaternaire ; Seules les enzymes allostériques adoptent la structure quaternaire indispensable pour leurs activités régulatrices.

2.2) **Cofacteurs** : Corps chimique intervenant obligatoirement dans une réaction enzymatique : \*pour transporter ou compléter un substrat \*pour accepter un produit

\*pomme participant à la structure de l'enzyme On

distingue 2 types de cofacteurs :

les activateurs (inorganiques) et les coenzymes(organiques).

○ **Activateurs** : représentés par des ions métalliques qui peuvent jouer 2 rôles possibles :

-fixation du substrat et formation d'un *complexe organométallique* -peuvent servir de *centre actif*

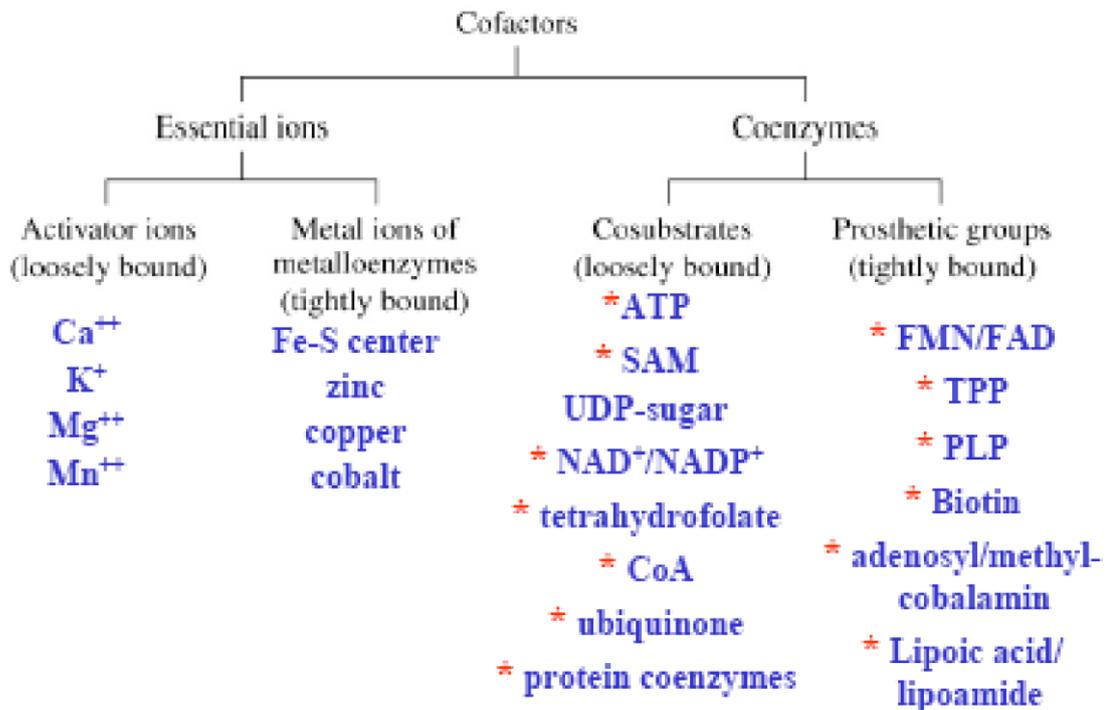
*Exemple* : **Fer** indispensable pour l'activité de la catalase

Toutes les kinases sont activées par le **Mg<sup>2+</sup>**                      **Zinc**

pour l'activité de l'anhydrase carbonique

*NB* : l'absence de ces activateurs peut provoquer l'inactivation totale ou partielle de l'enzyme

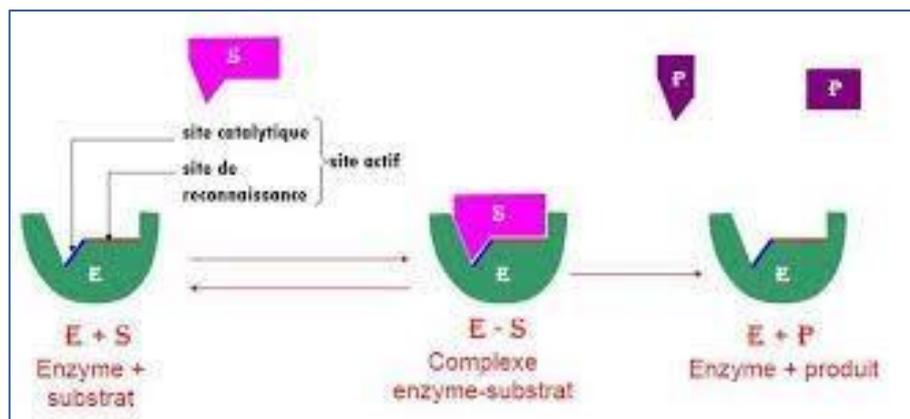
○ **Coenzymes**: ce sont des **molécules biologiques** c'est-à-dire que leur synthèse naturelle ne peut être faite que par des cellules vivantes. Lorsque cette synthèse n'est pas inscrite dans le patrimoine génétique d'une espèce, alors tout ou partie de la molécule du coenzyme doit être apporté à cette espèce par l'alimentation : cet aliment indispensable s'appelle une **vitamine**. Les coenzymes sont des **cofacteurs** donc des molécules indispensables à la catalyse enzymatique.



### 3) Le site actif :

3.1) **La nature du site actif** : c'est la **région tridimensionnelle** qui se lie au substrat ; le site actif est constitué d'au moins **deux parties fonctionnelles**:

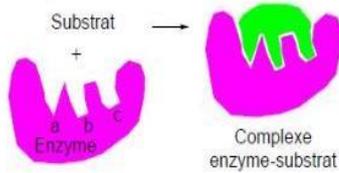
- **Le site de reconnaissance** du substrat est constitué de certains acides aminés qui sont associés avec l'orientation du substrat et donc avec la spécificité de l'enzyme.
- **Le site catalytique** est formé de résidus qui sont directement impliqués dans la formation et la rupture des liens chimiques, se trouve au fond de la cavité du site actif et dans la majorité des cas possèdent des résidus présentant des chaînes latérales ioniques ou réactives (ex : His, Lys, Cys, Ser, Asp, Glu)



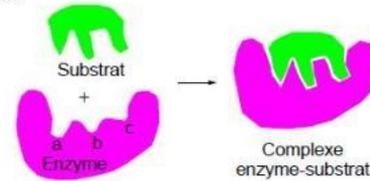
### 3.2) La forme du site actif :

Deux modèles ont été proposés pour expliquer la spécificité des enzymes vis-à-vis du substrat :

**Clé-serrure:** la forme du site actif est complémentaire à celle du substrat



**Forme induite:** l'enzyme change sa conformation lors de la liaison du substrat.



1890: Fischer a proposé que la forme du substrat est complémentaire de la forme du site actif de l'enzyme = **modèle de la clé et de la serrure**. 1958: Koshland a proposé que l'enzyme et le substrat adaptent mutuellement leurs formes respectives

= **modèle de l'ajustement induit (comme la main et le gant) « Une molécule d'enzyme n'est pas rigide mais flexible ».**

### 3.3) Nature des interactions substrat-enzyme :

Les substrats sont liés aux enzymes par des interactions faibles

La liaison du substrat au site actif implique souvent de nombreuses liaisons non covalentes de types : Van der Waals ; Electrostatiques ; Ponts hydrogènes.

### 3.4) Variétés moléculaires des enzymes :

**3.4.1) Isoenzymes :** ce sont des enzymes catalysant la même réaction sur le même substrat, mais ayant des structures protéiques différentes (propriétés physicochimiques différentes) présentent une expression tissu-dépendante Ex : la LDH tétramérique possède 2 types de protomères (H : Heart et M : Muscle : H5, H4M, H3M2, ... M4), il en résulte 5 isoenzymes séparables par électrophorèse.

**3.4.2) Proenzymes :** Certaines protéines sont fabriqués et secrétés sous forme de précurseurs protéiques inactifs=proprotéines=proenzymes=zymogènes.

La conversion d'une proprotéine en une protéine mature fait appel à une protéolyse sélective (processus à plusieurs étapes successives), exemple : trypsinogène et trypsine

**3.4.3) Ribozymes :** Certains acides ribonucléiques (ARN) bien qu'ils ne soient pas des protéines, ils présentent une activité catalytique hautement spécifique du substrat. Ces ARN sont appelés : Ribozymes.

Ils catalysent la transestérification et l'hydrolyse des liaisons phosphodiester dans la molécule d'ARN et jouent un rôle clé dans les étapes d'épissage des introns.

## CARACTERISTIQUES DES ENZYMES :

### 1. La spécificité :

Les enzymes possèdent une double spécificité :

**Spécificité d'action :** d'une part une enzyme ne catalyse, pour un substrat donné, qu'un seul type de réaction : pour un acide aminé on pourra avoir soit une transamination, une décarboxylation, une oxydation... **Spécificité de**

**substrat :** d'autre part une enzyme n'agit que sur un substrat ou une classe de substrat :

Exemple : l'amylase salivaire n'hydrolyse que l'amidon en maltose (**spécificité étroite** ou l'enzyme ne transforme qu'un seul substrat)

Les phosphodiesterases hydrolysent les esters de l'acide phosphorique (**spécificité de groupe**).

**NB : la Stéréospécificité :** l'enzyme distingue des isomères optiques (L-D) ou des isomères Z et E (cis-trans)

Exemple : la réduction du pyruvate par la LDH dans le muscle ne conduit qu'au L-lactate.

La trypsine, la chymotrypsine (enzyme de la digestion) n'hydrolysent que des substrats formés d'acides aminés de configuration absolue L.

## 2. L'Efficacité d'une enzyme :

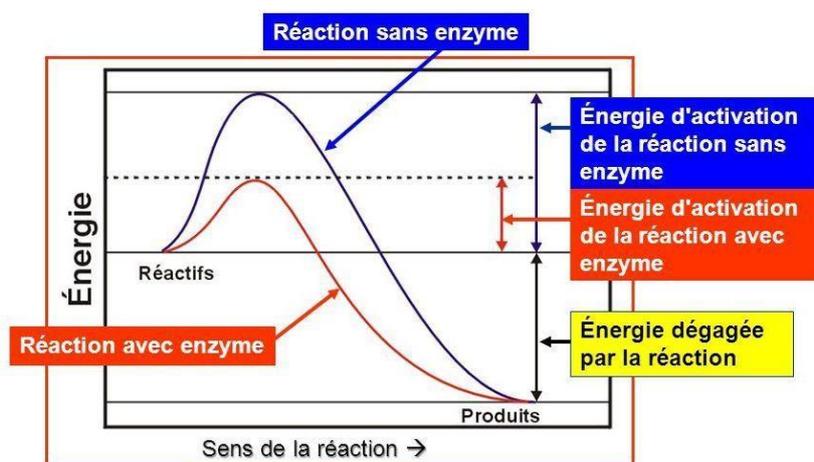
Elle s'exprime par l'**activité catalytique** qui correspond au terme « **turnover number** » ou **taux de roulement** (nombre de rotations) pour une enzyme à un seul site actif (en  $s^{-1}$ )

Exemple : l'énergie d'activation nécessaire à la décomposition de  $H_2O_2$  est de **75 kJ.mol<sup>-1</sup>** en l'absence de catalyseur, de **49 kJ.mol<sup>-1</sup>** en présence de platine colloïdal et d'environ **8,4 kJ.mol<sup>-1</sup>** en présence de catalase.

## LA CATALYSE ENZYMATIQUE :

### Principe de la catalyse enzymatique :

Les enzymes catalysent les réactions de transformations des substrats(S) en produits(P) en un temps très court (fractions de secondes). L'accélération de la vitesse de la réaction catalysée par l'enzyme est expliquée par l'abaissement de l'énergie d'activation, qui, en l'absence d'enzyme, est grande et constitue une barrière thermodynamique défavorable au déroulement de la réaction.



L'énergie d'activation ou l'énergie libre d'activation ( $\Delta G_A$ ) est l'énergie qui doit être absorbée par les substrats pour que leurs liaisons soient brisées.

Les substrats doivent atteindre un état de transition instable dans lequel les liaisons sont plus fragiles et plus facile à briser.

Même une réaction exergonique, où le  $\Delta G$  est négatif, requière l'absorption d'énergie pour atteindre l'état de transition.

L'énergie d'activation est une barrière essentielle puisqu'elle prévient la dégradation spontanée des macromolécules cellulaires riches en énergie (graisses, protéines et polysaccharides).

Une fois l'état de transition est atteint, les macromolécules se dégradent pour en retirer l'énergie dont on a besoin.

### **Mécanismes de la catalyse enzymatique :**

La catalyse enzymatique s'explique par un ensemble de mécanismes étroitement liés :

L'enzyme accélère la réaction sans modifier l'état d'équilibre

Les enzymes abaissent l'énergie d'activation du substrat

La première étape implique la formation d'un complexe enzyme-substrat

Spécificité d'un substrat par des interactions/adaptations réciproque via des liaisons de faible énergie.

Les enzymes stabilisent aussi l'état de transition (ils accélèrent la vitesse d'une réaction par l'abaissement de l'énergie libre de l'état de transition).

Transformation du substrat en produit, libéré avec l'enzyme.

Les mécanismes que les enzymes utilisent sont classifiés de la manière suivante :

- ✚ L'enzyme fournit les groupes accepteur/donneur de protons, dans un mécanisme de catalyse acide/base, exemple : l'hydrolyse de peptides et d'esters, réactions de tautomérisation et les réactions d'addition sur les groupements carbonyles.
- ✚ L'enzyme peut se combiner de façon covalente avec le substrat pour former un intermédiaire qui permet une réaction plus rapide, exemple de la chymotrypsine.
- ✚ L'enzyme utilise des ions métalliques comme cofacteurs (environ un tiers des enzymes connues), on distingue :
  - Les métalloenzymes ou les ions métalliques sont fortement liés, le plus souvent des ions de métaux de transition tels que :  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  ou  $\text{Co}^{3+}$ .
  - Les enzymes activés par des métaux : liaison faible à des ions métalliques en solution, des ions de métaux alcalins ou alcalino-terreux tels que  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ou  $\text{Ca}^{2+}$ .

-les ions métalliques participent au processus de catalyse enzymatique selon quatre modalités principales :

- 1) En se liant aux substrats de sorte à les orienter correctement pour la réaction.
- 2) En participant à des réactions d'oxydoréduction par des changements réversibles de l'état d'oxydation de l'ion métallique.

- 3) Des ions métalliques participent à la catalyse enzymatique nucléophile en assurant l'ionisation de l'eau pour le rendre plus nucléophile, exemple de l'anhydrase carbonique.
- 4) Des ions métalliques participent aux réactions enzymatiques par masquage de charge, exemple des kinases qui masquent les charges négatives des groupements phosphates de l'ATP par le  $Mg^{2+}$  (les véritables substrats des kinases sont les complexes  $Mg^{2+}$ -ATP et non l'ATP seul)
- ✚ L'enzyme utilise les forces électrostatiques, pour aligner le substrat et stabiliser l'état de transition.
  - ✚ L'enzyme fixe le substrat de telle sorte que les liens réactionnels sont situés près du site catalytique et sont orientés de telle sorte que l'état de transition est atteint très rapidement.
  - ✚ L'enzyme peut induire la distorsion et/ou la tension au niveau du lien à couper, ce qui le déstabilise et le rend plus facile à couper. L'enzyme fixe donc préférentiellement le substrat sous forme d'état de transition.

### **Facteurs influençant la catalyse enzymatique :**

#### **a. Les facteurs physico-chimiques :**

#### **La température : Elle a 2 effets sur la réaction enzymatique :**

- \* Elle l'accélère comme elle accélère toutes les réactions chimiques en fournissant l'énergie nécessaire au franchissement de la barrière due à l'énergie d'activation.
- \* Elle entraîne progressivement la dénaturation de la protéine (structures secondaires et tertiaires) donc sa désactivation.

**La résultante de ces 2 effets se traduit par une courbe:** Généralement dissymétrique, Passant par une valeur maximale pour une température dite **température optimale**.

En dessus de la température optimale, la vitesse est multipliée par 2 environ tous les 10°C.

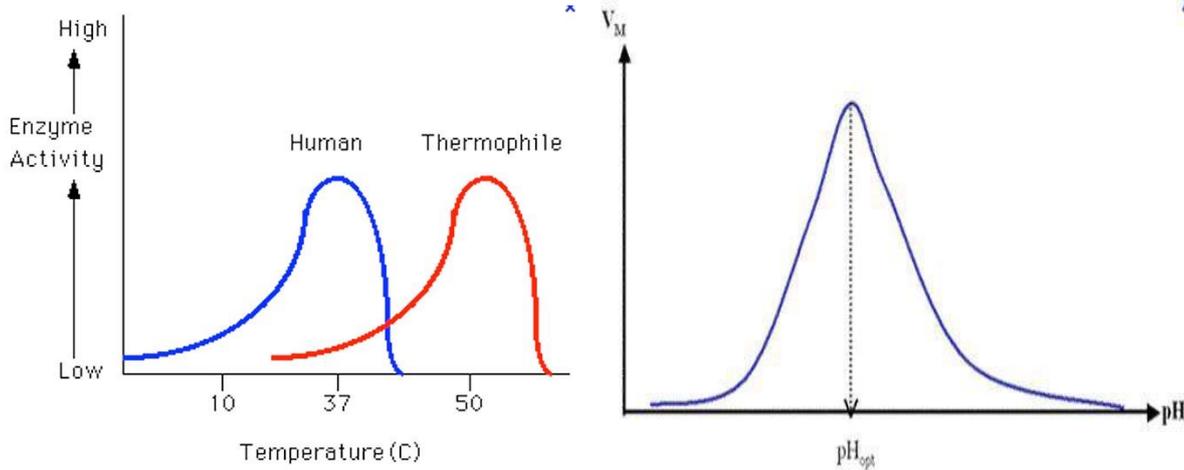
La température optimale de la plupart des enzymes est proche de celle du milieu cellulaire. Cependant, certains organismes adaptés à des conditions de vie extrême (cas des bactéries des eaux thermales) ont des enzymes dont la température optimale avoisine celle du point d'ébullition de l'eau ex : la **Taq-polymérase** utilisée en PCR.

#### **Le pH : Il a 2 effets sur la réaction enzymatique :**

- \*Aux valeurs extrêmes, il dénature, donc désactive la protéine en modifiant l'état d'ionisation des chaînes latérales des acides aminés.
- \*Aux valeurs intermédiaires, il influe sur l'activité en modifiant l'état d'ionisation des chaînes latérales des acides aminés du site actif et celui du substrat.

**La résultante de ces 2 effets se traduit par une courbe** « en cloche » passant par une valeur maximale pour un pH dit **pH optimal**.

Le pH optimal de la plupart des enzymes est voisin de la neutralité. Certains enzymes ont des pH extrêmes ex : la **pepsine** (enzyme gastrique) pH=2 et la **trypsine** (enzyme intestinal) pH=9



### b. Les effecteurs chimiques

Inhibiteurs et activateurs (voir le cours de la modulation enzymatique).

### APPLICATIONS DE L'ENZYMOLOGIE :

On peut utiliser les enzymes pour :

#### **Diagnostic & pronostic :**

Comme étant des cibles à doser, permettant de poser ou d'orienter les diagnostics de certaines pathologies ;  
exemples :

Enzyme	Localisation	pathologie
ASAT, ALAT	sérique	Hépatites virales
PAL	Sérique	Affections osseuses et hépatiques
Lipase, Amylase	Sérique	pancréatites
CKMB	Sérique	Infarctus du myocarde
G6PD	Erythrocyte	Déficit héréditaire en G6PD

#### **Application analytique :**

Comme étant des réactifs permettant de doser une substance, les enzymes constituent des outils analytiques importants; elles offrent des méthodes sensibles et sélectives pour l'identification et la quantification des biomolécules ; exemple :

- méthodes colorimétriques, comme l'Héxokinase pour le dosage de la glycémie. - méthodes immunologiques, ex : ELISA.

#### **Application thérapeutique :**

- Utilisation d'inhibiteurs enzymatique en thérapeutique, ex : -  
les statines (inhibiteurs de HMG-CoA réductase) ;  
- les antimétabolites en chimiothérapie anticancéreuse.

#### **Application génétique :**

- Les enzymes de restriction pour le diagnostic de certaines maladies génétiques ;
- Pour les réactions d'amplification in vitro, PCR, RFLP...

#### **Application industrielle :**

- Evaluer la qualité des aliments ;
- Vérification des processus de stérilisation et de pasteurisation ;
- Synthèse d'hormones, et de médicaments.

Coenzyme	Rôle métabolique	Origine vitaminique
<b>Principaux coenzymes activateurs</b>		
Flavine mononucléotide (FMN) Flavine adénine dinucléotide (FAD)	Réaction d'oxydoréduction impliquant le transfert d'un ou de deux électrons	Riboflavine (vitamine B <sub>2</sub> )
Thiamine pyrophosphate (TPP)	Transfert de groupes aldéhyde	Thiamine (vitamine B <sub>1</sub> )
Pyridoxal phosphate (PLP)	Transfert de groupes appartenant à des aminoacides	Pyridoxine (vitamine B <sub>6</sub> )
Biotine	Carboxylations et transfert de carboxyles	Biotine (vitamine H)
Adénosylcobalamine Méthylcobalamine	Réarrangements intramoléculaires et transfert de méthyles	Cobalamine (vitamine B <sub>12</sub> )
Lipoamide	Oxydation d'un groupe hydroxyalkyle	Vitamine A
<i>cis</i> -Rétinal	Vision	Vitamine K
Vitamine K	Carboxylation de résidus glutamate	
<b>Principaux coenzymes transporteurs</b>		
Adénosine triphosphate (ATP)	Transfert de phosphoryles ou de nucléotides	
S-adénosylméthionine	Transfert de méthyles	
Phosphoadénosine phosphosulfate (PAPS)	Transfert de sulfuryles	
Oses nucléotidylés	Transfert de groupes carbohydate	
Alcools cytidylés	Transfert d'alcools dans la synthèse des lipides	
Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD <sup>+</sup> ), Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP <sup>+</sup> )	Réactions d'oxydoréduction impliquant le transfert de deux électrons	Niacine
Coenzyme A	Transfert d'acyles	Pantothénate
Tétrahydrofolate	Transfert de groupes monocarbonés	Folate
Ubiquinone	Transport d'électrons	