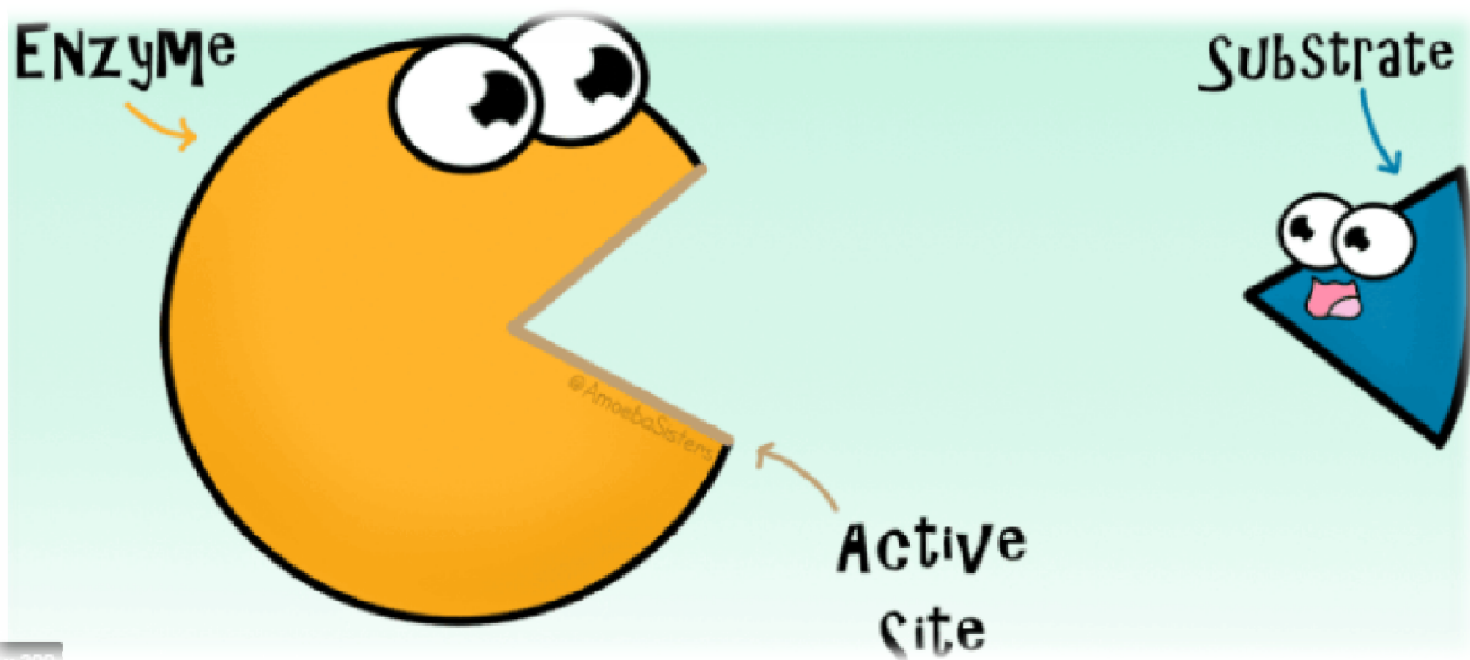
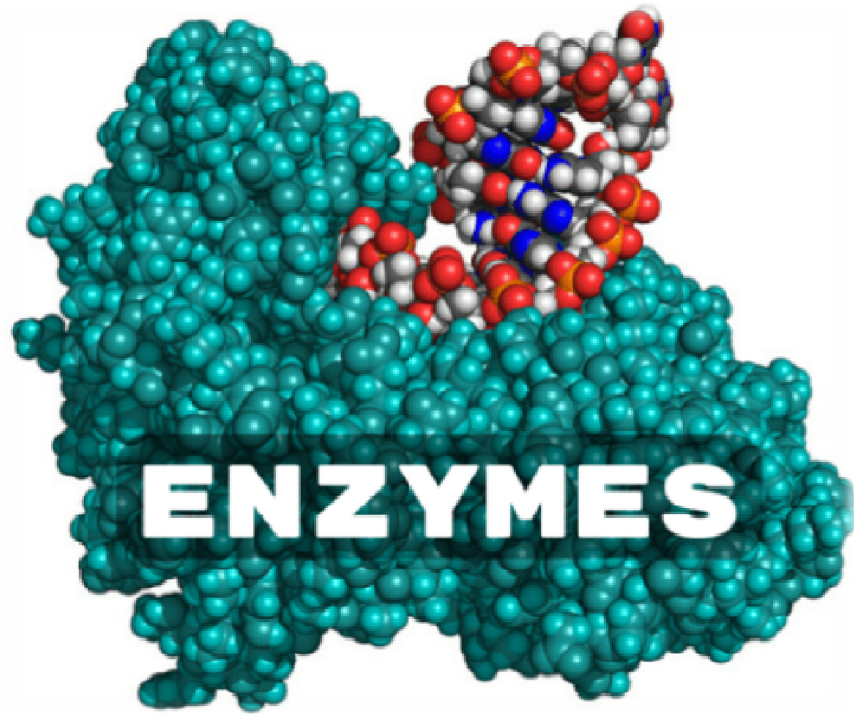
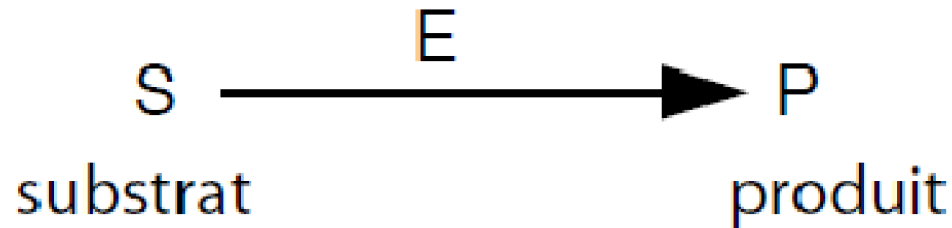




Les enzymes (E) sont des protéines qui catalysent des réactions biologiques dans lesquelles un substrat est transformé en produit.

Ce sont les catalyseurs du monde vivant



Les enzymes sont des catalyseurs, c'est-à-dire qu'en agissant à des **concentrations très petites**, elles augmentent la **vitesse des réactions** chimiques, sans en modifier le résultat.

A la fin de la réaction la structure de l'enzyme se retrouve inchangée.

Une enzyme donnée est **spécifique** d'une réaction, c'est-à-dire qu'elle catalyse toujours **la même transformation**, se produisant sur les mêmes corps chimiques initiaux.

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

•Cofacteurs

Oxydase: Cu^{2+}

ADN polymerase : Mg^{2+}

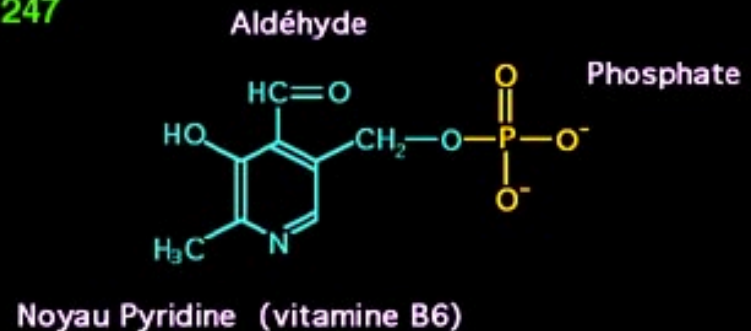
•Co-enzymes

Facteur de croissance: ATP, NADP.....

Vitamine (tous les vitamines sauf C et A)

EX: Le Phosphate de Pyridoxal (PPal) est le coenzyme lié des transaminases, désaminases, décarboxylases,

247



Phosphate de Pyridoxal

Coenzyme

Thiamine pyrophosphate	Pyruvate dehydrogenase
Flavin adenine nucleotide	Monoamine oxidase
Nicotinamide adenine dinucleotide	Lactate dehydrogenase
Pyridoxal phosphate	Glycogen phosphorylase
Coenzyme A (CoA)	Acetyl CoA carboxylase
Biotin	Pyruvate carboxylase
5'-Deoxyadenosyl cobalamin	Methylmalonyl mutase
Tetrahydrofolate	Thymidylate synthase

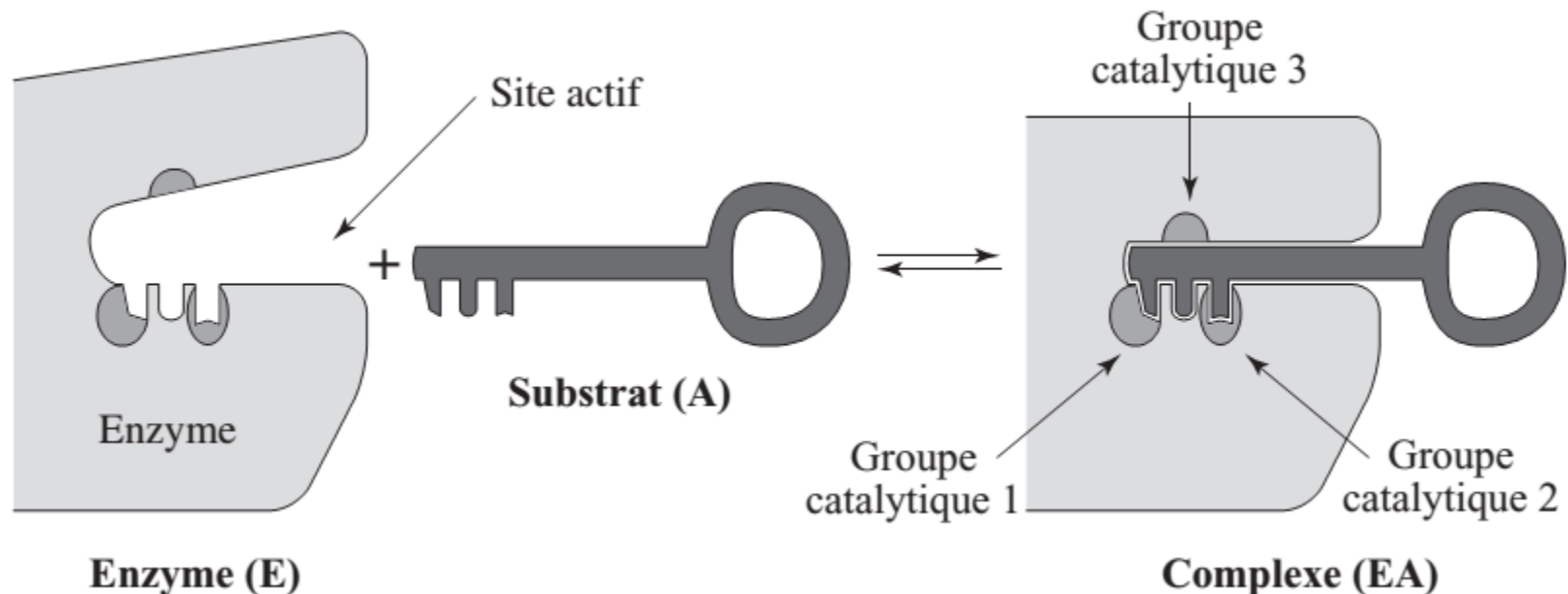
Metal

Zn ²⁺	Carbonic anhydrase
Zn ²⁺	Carboxypeptidase
Mg ²⁺	<i>EcoRV</i>
Mg ²⁺	Hexokinase
Ni ²⁺	Urease
Mo	Nitrate reductase
Se	Glutathione peroxidase
Mn	Superoxide dismutase
K ⁺	Propionyl CoA carboxylase

•Enzyme déshydrogénase:

Enzyme	Abrév.	Cofacteurs
Pyruvate déshydrogénase EC 1.2.4.1 : décarboxylase	E1	Thiamine pyrophosphate (TPP)
Dihydrolipoamide S-acétyltransférase EC 2.3.1.12 : acyltransférase	E2	Lipoamide / dihydrolipoamide Coenzyme A (CoA-SH)
Dihydrolipoyl déshydrogénase EC 1.8.1.4 : oxydo-réductase	E3	Flavine adénine dinucléotide (FAD) Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD ⁺)

- Les enzymes sont en général des protéines globulaires.
- Le **site actif (modèle clé-serrure)** est formé d'un **site de fixation** et d'un **site catalytique** :
 - le **site de fixation** reconnaît la structure du substrat et détermine l'affinité et la spécificité de la réaction
 - le **site catalytique** permet la transformation du substrat en produit et détermine la vitesse de la réaction



- Petite zone hydrophobe
- Seul quelques acides aminés impliqués directement dans la catalyse

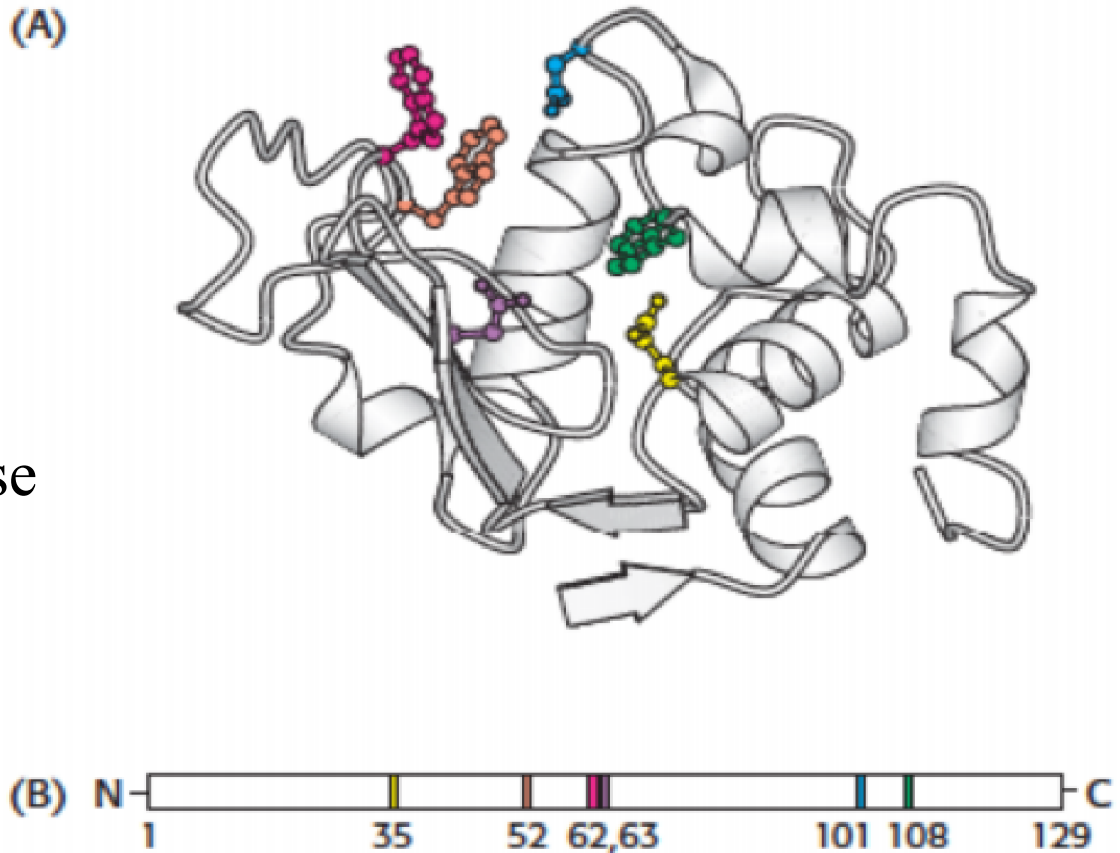


Figure 8.6 Active sites may include distant residues.
(A) Ribbon diagram of the enzyme lysozyme with several components of the active site shown in color. (B) A schematic representation of the primary structure of lysozyme shows that the active site is composed of residues that come from different parts of the polypeptide chain. [Drawn from 6LYZ.pdb.]

Substrat

Toutes les molécules qui entrent dans une réaction enzymatique et sont définitivement modifiées sont appelées substrats.

Produit

La nouvelle molécule qui résulte de cette transformation est appelée produit.

Coenzymes et cofacteur

Molécule biologique intervenant comme cofacteur indispensable dans la catalyse enzymatique d'une réaction

Substrats

Théoriquement, une seule réaction possible, sur un seul substrat

En réalité, Il est fréquent qu'une enzyme intervienne non sur une molécule unique, mais sur une classe de substrats.

Il existe une relation structure activité : il faut que la bonne liaison soit placée au bon endroit

•Réaction

En fonction de l'environnement atomique du site catalytique, un seul type de réaction sera possible :

- acide - base
- redox, par échange d'électrons avec des ions métalliques (cytochromes)
- transferts de groupements.....

❖ **Spécificité large**

Enzyme agit sur une classe de substrat

Ex: Phosphoestérase hydrolyse les esters de l'acide phosphorique

❖ **Spécificité étroite**

Enzyme ne peut transformer qu'un seul substrat

EX: Uréase agit sur un seul substrat l'urée

❖ **Stéréospécificité**

Enzyme distingue les isomères optiques(cis, trans, D, L...)

Ex: Trypsine hydrolyse que les acides aminés de la série L

Le nom de l'enzyme indique à la fois le **substrat** et la **réaction** catalysée :

- **glucose-6 phosphatase** : l'enzyme hydrolyse la liaison ester-phosphate en C-6 du glucose ;
- **glucokinase** : l'enzyme transfère un groupe phosphate de l'ATP au glucose.

• La Commission des enzymes (*Enzyme Commission*) a établi une classification qui attribue à chaque enzyme un nombre à quatre chiffres (E.C. X.X.X.X) en fonction :

- de la réaction chimique ;
- de la classe de réaction ;
- de la sous-classe ;
- des caractéristiques de l'enzyme.

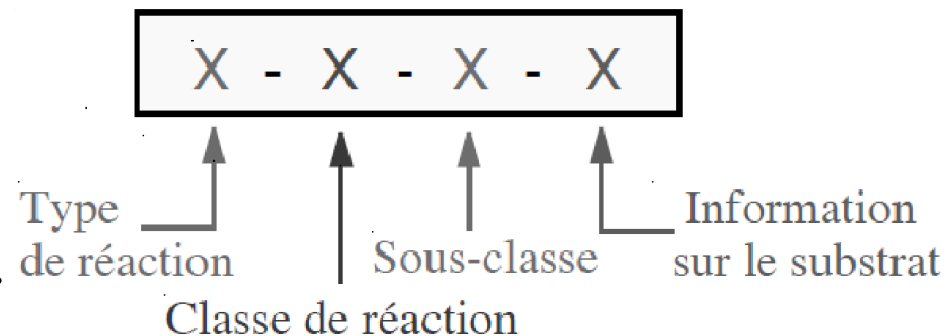


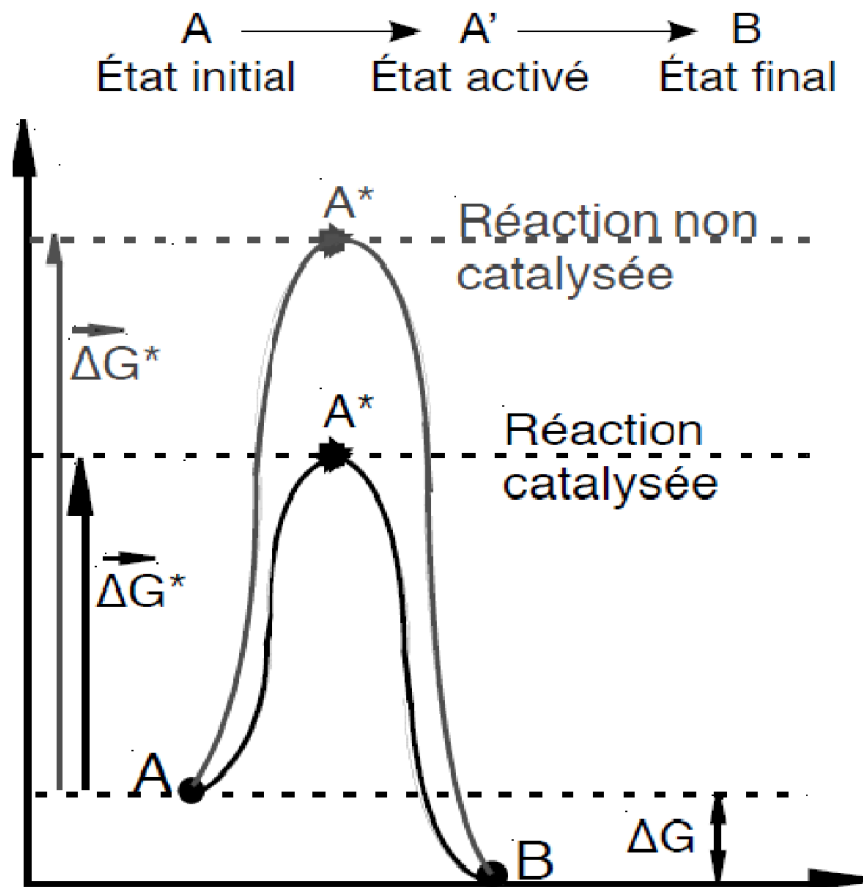
Fig. 43.4 – Nomenclature des enzymes.

- **Types de réactions catalysées**
- **EC 1 : oxydoréductases** (catalysent les réactions d'oxydoréduction).
- **EC 2 : transférases** (transfèrent un groupement fonctionnel, un phosphate par exemple).
- **EC 3 : hydrolases** (catalysent la coupure de liaisons avec consommation de H₂O).
- **EC 4 : lyases** (catalysent la coupure de liaisons sans consommation de H₂O).
- **EC 5 : isomérases** (catalysent les réactions d'isomérisation dans une molécule).
- **EC 6 : ligases** (catalysent la formation de liaisons covalentes entre deux molécules).

Lactate déshydrogénase E.C 1.2.1.22			
1. Oxydoréductase	2. Agit sur la fonction aldéhyde ou oxo du donneur d'électrons	1. L'accepteur d'électrons est NAD ⁺ ou NADP ⁺	22. Le substrat est le lactate
Hexokinase E.C 2.7.1.1			
2. Transférase	7. Le groupe transféré est un phosphate	1. L'accepteur est une fonction alcool	1. Le substrat est un hexose
Trypsine E.C 3.4.21.4			
3. Hydrolase	4. Agit sur des liaisons peptidiques	21. Serine endopeptidase	4. Clivage préférentiel : Arg, Lys

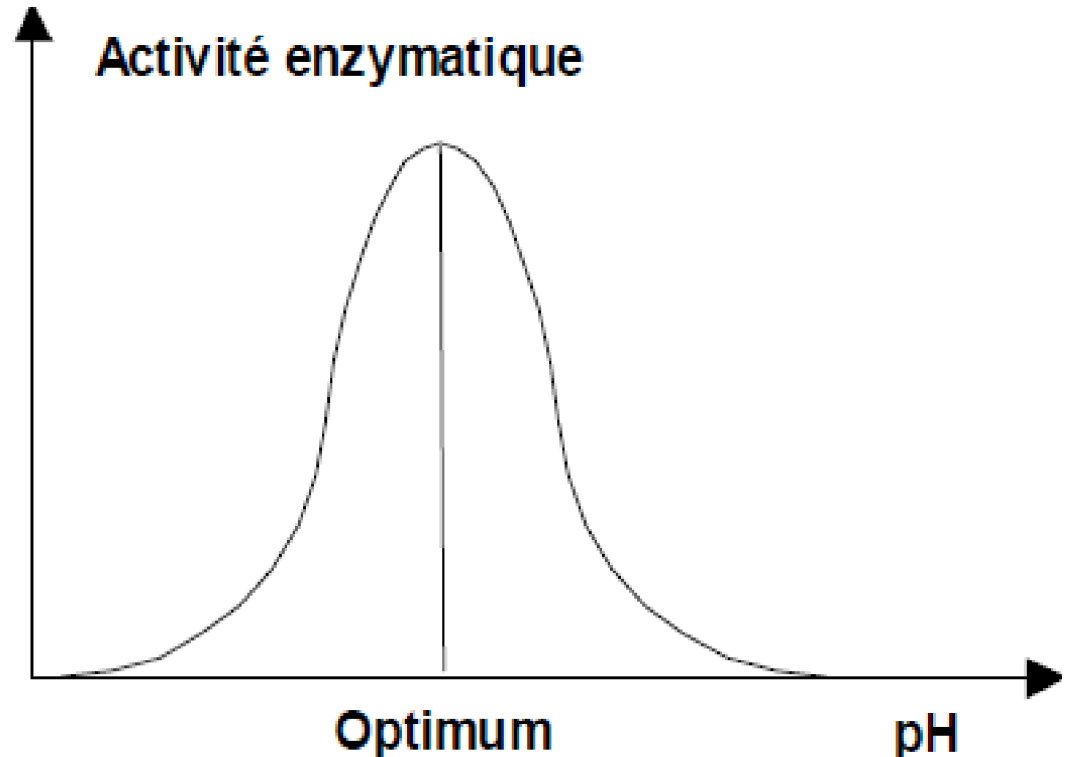
Tab. 43.2 – Exemples de la classification des enzymes.

- La vitesse de la réaction dépend d'un paramètre qui est l'énergie d'activation ΔG^* .
- Les enzymes augmentent la vitesse de la réaction en diminuant la valeur de ΔG^* .



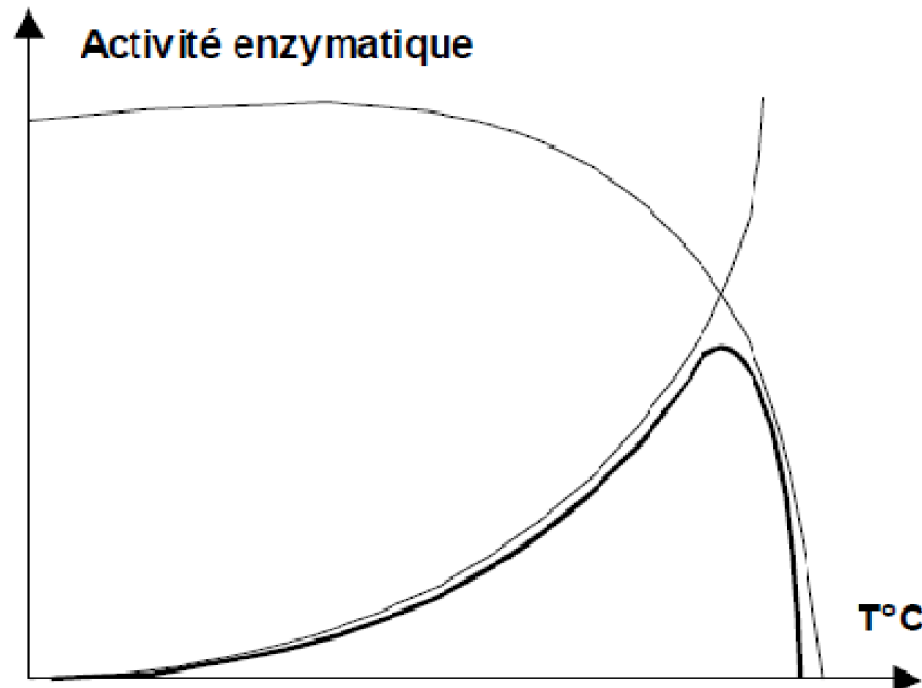
7.1. Influence du pH

- Perturbation rapide de l'activité enzymatique
- V_{max} correspond à un pH optimal
- Dès que l'on s'écarte de cette valeur (± 0.5 unités de pH), la vitesse diminue rapidement. Le pH joue sur l'ionisation des molécules : surtout au niveau du site actif ou même le substrat.

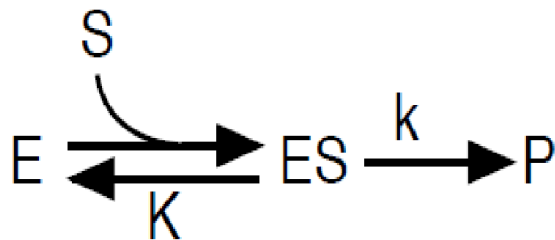


7.2. Influence de la température

- 1) De 0 à 40°C: la vitesse de la réaction augmente quand la température augmente (on fournit de **l'énergie au système**).
- 2) V_{max} : température atteint **V_{max}** , on parle alors de température maximale.
- 3) Au delà de 42-45°C : diminution rapide de la vitesse en augmentant la température: la protéine en revanche est dénaturée : **Dénaturation**

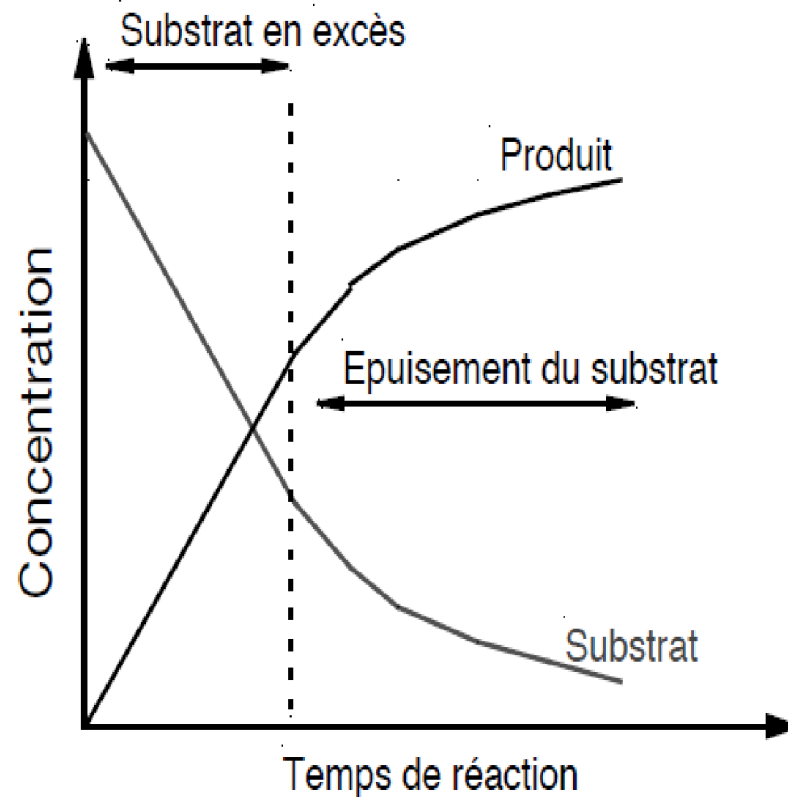


L'activité de l'enzyme détermine la vitesse de la réaction. Lorsque le substrat est **en excès** par rapport à l'enzyme, l'apparition du produit (ou la disparition du substrat) est linéaire au cours du temps. C'est pendant cette phase que l'activité de l'enzyme est mesurée expérimentalement.



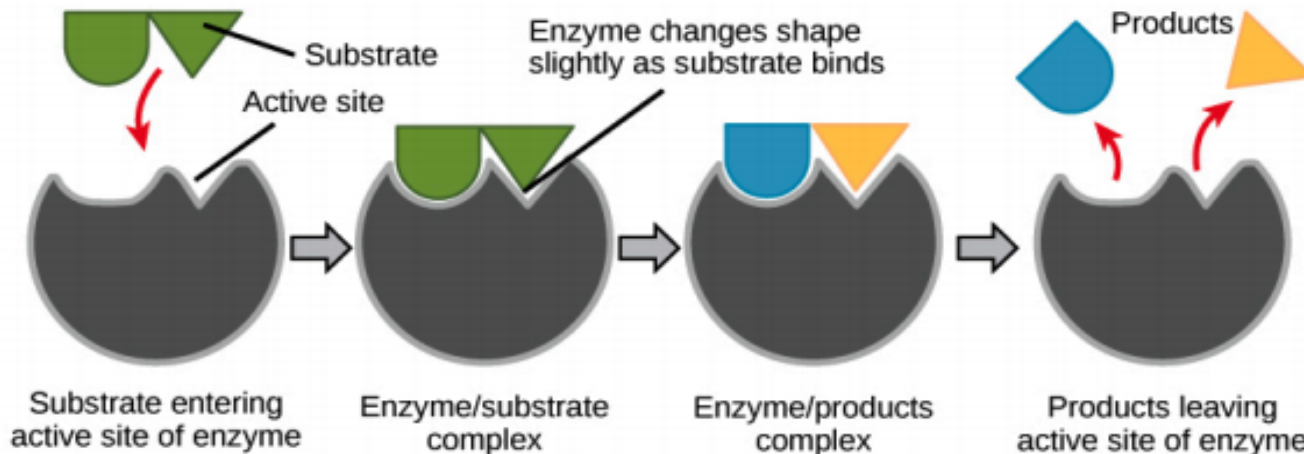
Vitesse de la réaction :

$$v = d[P]/dt = -d[S]/dt$$



La réaction enzymatique peut se diviser en trois principales étapes

1. L'association de l'enzyme et du substrat: se produit en région bien précise appelée site actif; elle est stabilisée par des liaisons de faible énergie (hydrogènes, ioniques, hydrophobe....)
2. Le complexe ES subit un réarrangement interne qui va permettre de transformer le substrat en produit.
3. L'enzyme libère le produit de la réaction et retrouve son état initial



k_1 , k_{-1} et k_{cat} sont les **constantes de vitesse** des différents actes élémentaires: quantifiant la rapidité de passage d'un état à l'autre

k_1 : constante de vitesse de formation du complexe ES, elle ne met en jeu que les liaisons de faible énergie

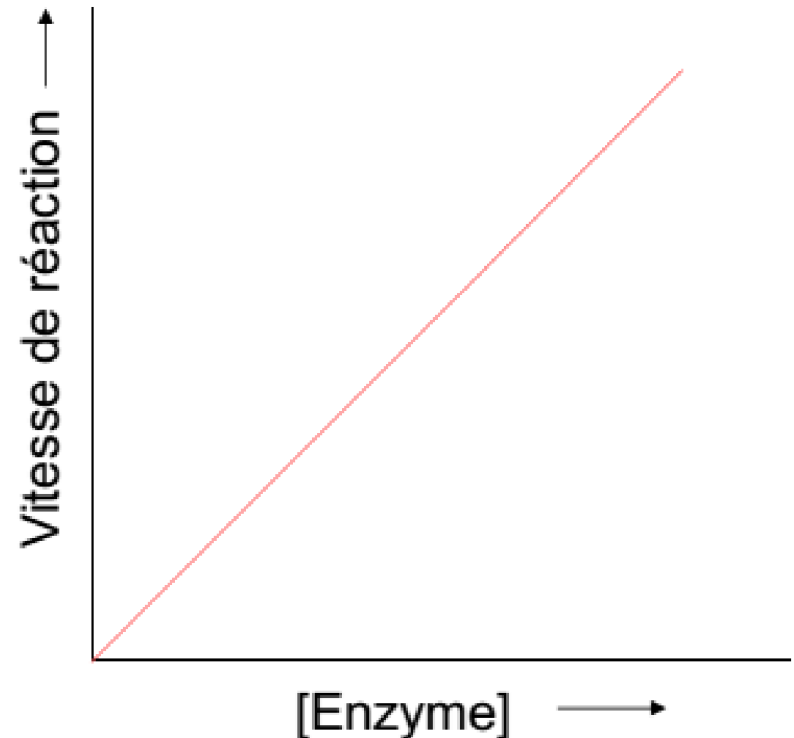
k_{-1} : est la constante de vitesse de dissociation du complexe

k_{cat} : est la constante catalytique

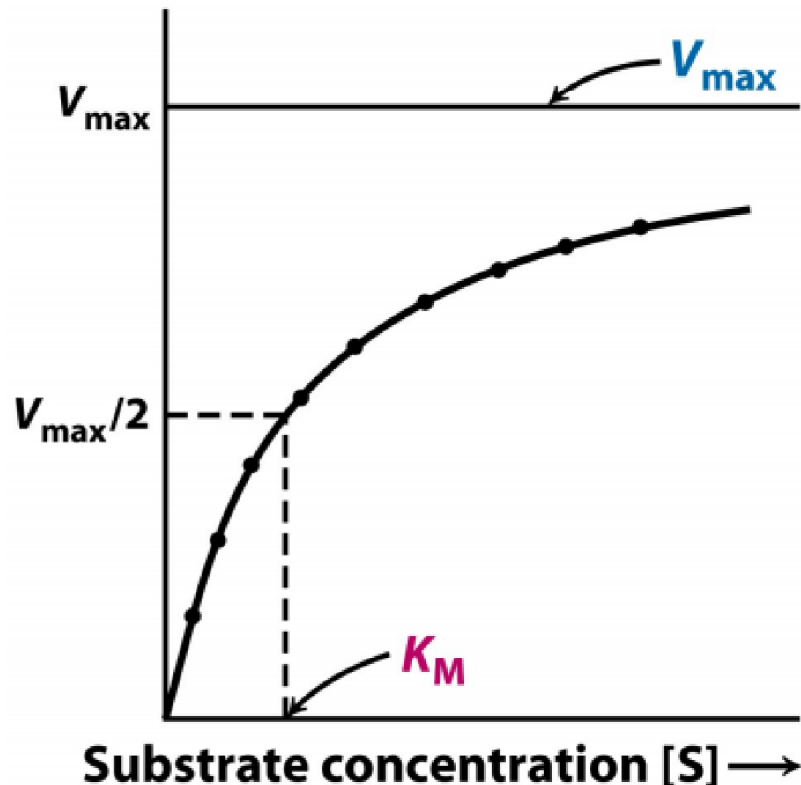


1 *Effet de la concentration d'enzyme*

- ❖ Lorsque $[\text{enzyme}] \ll [\text{substrat}]$, la vitesse de la réaction est directement proportionnelle à la concentration de l'enzyme.
- ❖ La vitesse de réaction augmente lorsque $[\text{enzyme}]$ augmente. Ceci est vraie pour n'importe quel catalyseur.



- 2 ❖ La vitesse de réaction est maximale lorsque toutes les molécules d'enzyme sont complexées au substrat. Cette situation correspond à des concentrations élevées de substrat, où l'enzyme est soit disant saturée avec le substrat.
- ❖ Pour une concentration fixe de l'enzyme, un graphique de la vitesse initiale de réaction (V_0) en fonction de la concentration initial du substrat $[S]$ exhibe une courbe typique d'une cinétique de saturation, où un plateau est observé à $[S]$ élevées lorsque $V =$ vitesse maximale ($V_{\max}$).



Il est ainsi possible de tracer la courbe l'hyperbole définie par l'équation de **Michaelis**

$$V = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

Constante de Michaelis:

Avec $K_m = (K_{-1} + K_{cat}) / K_1$

Dans la majorité des cas: $K_{cat} \ll K_{-1}$ et K_1

Donc $K_m = K_{-1} / K_1$

Si K_m  affinité ..  (plus de dissociation que d'association)

D'après le graphe, K_m correspond à une concentration en substrat pour laquelle la vitesse est égale à $V_{max} / 2$

V_{max} correspond à la vitesse maximale quand l'enzyme est saturé par un excès de substrat

Le K_m et V_{max} sont les deux paramètres cinétique permettant d'apprécier l'activité enzymatique.

Méthode de Lineweaver-Burk

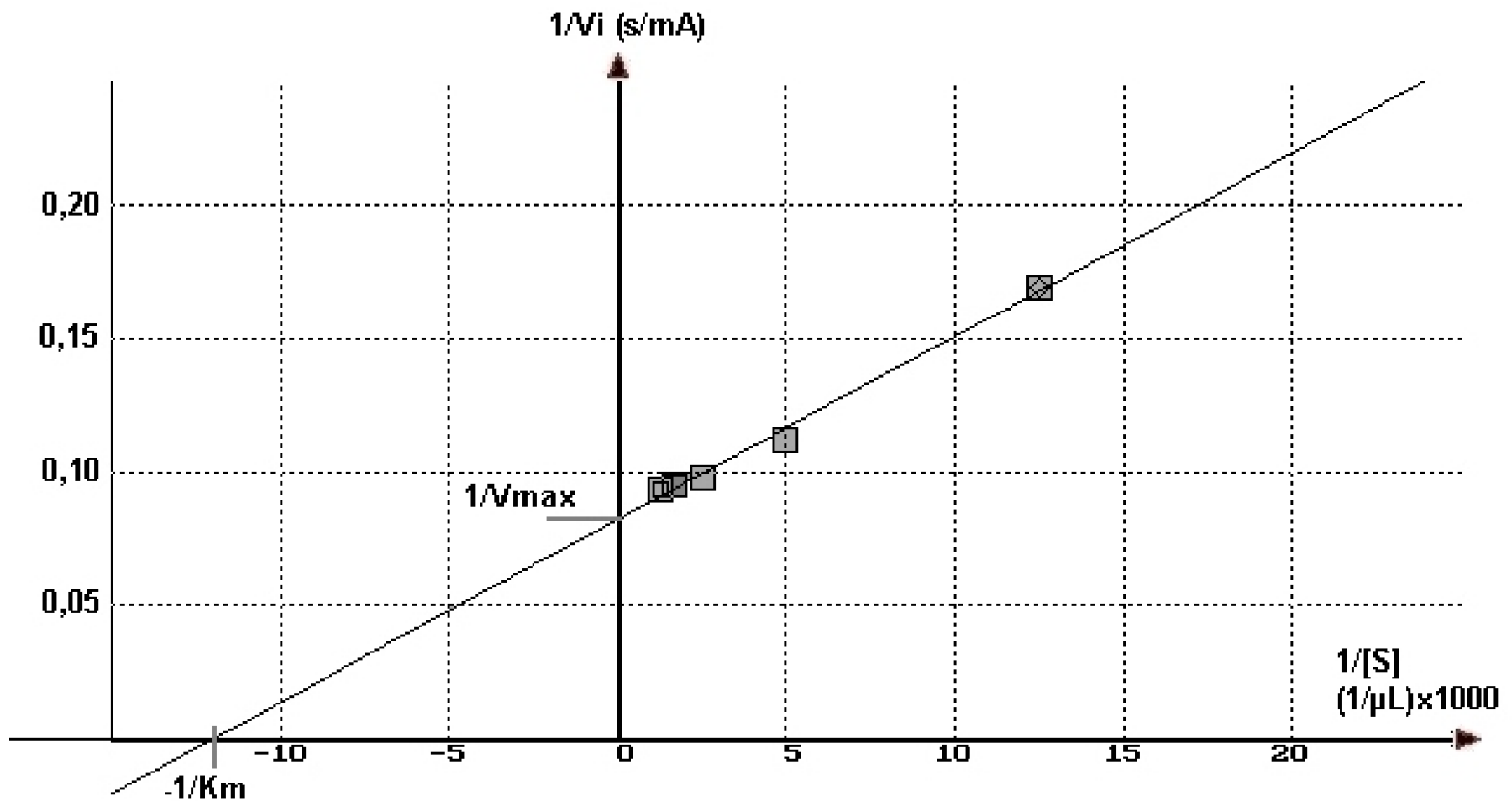
- ❖ Le réciproque de l'équation de Michaelis-Menten est très utile pour l'analyse des données de cinétique:

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} \cdot [S]}$$

qu'on peut aussi écrire
$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{\max} \cdot [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} \cdot [S]}$$

et qui se simplifie en
$$\frac{1}{V_o} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

- ❖ L'avantage de cette transformation mathématique est qu'elle permet de tracer un graphique $1/V_o$ vs $1/[S]$ dont la courbe est en fait une droite pour les enzymes obéissant à la relation Michaélienne entre vitesse de réaction et concentration du substrat.



Un grand nombre de molécule sont capable d'interagir avec les enzymes et de modifier leur activité: **les effecteurs**

Effecteurs

Inhibiteurs

Diminuent ou
stoppent la vitesse

Activateurs

Augmentent la
vitesse

Rôle: mécanisme de contrôle ou de régulation

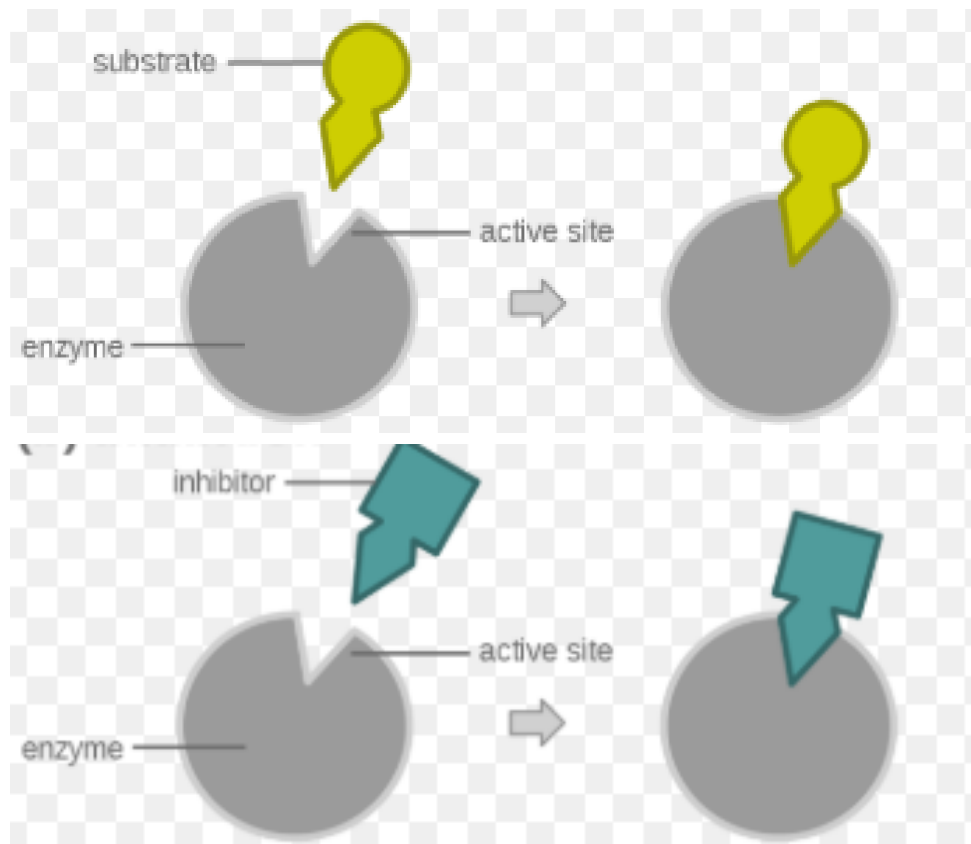
La fixation de l'inhibiteur sur l'enzyme peut être **irréversible**

EX cas de pénicilline qui s'oppose à la biosynthèse de la paroi bactérienne en inhibant une transpeptidase (en se fixant sur le site actif grâce à des liaisons covalente).

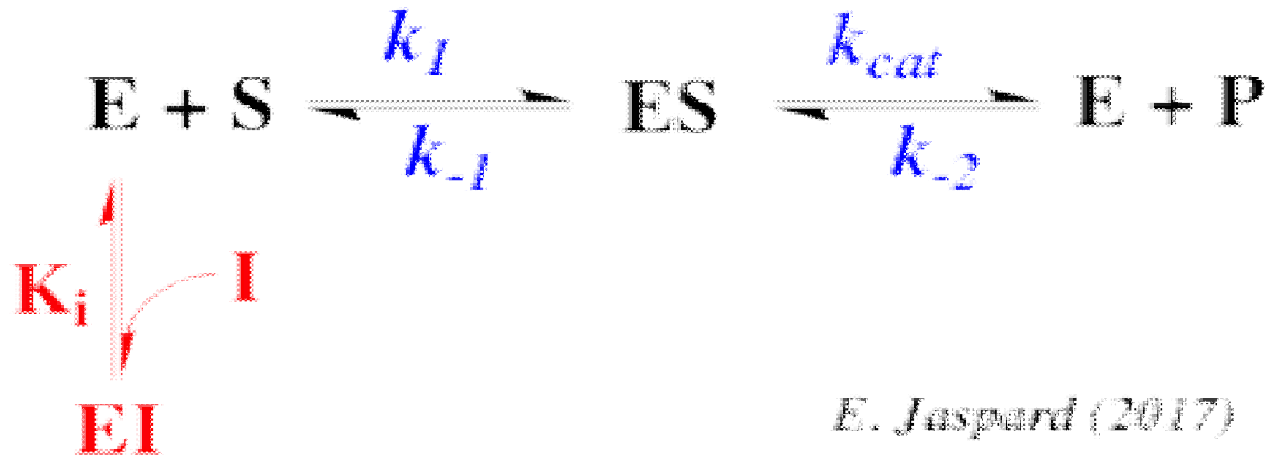
Le plus souvent, elle est **réversible**, c'est-à-dire que l'association enzyme-inhibiteur est de courte durée.

Inhibition compétitive

Ces composés moléculaires présentent une analogie structurale avec le substrat et le site actif de l'enzyme. L'inhibiteur entre en compétition avec le substrat pour s fixer sur l'enzyme



Inhibition compétitive



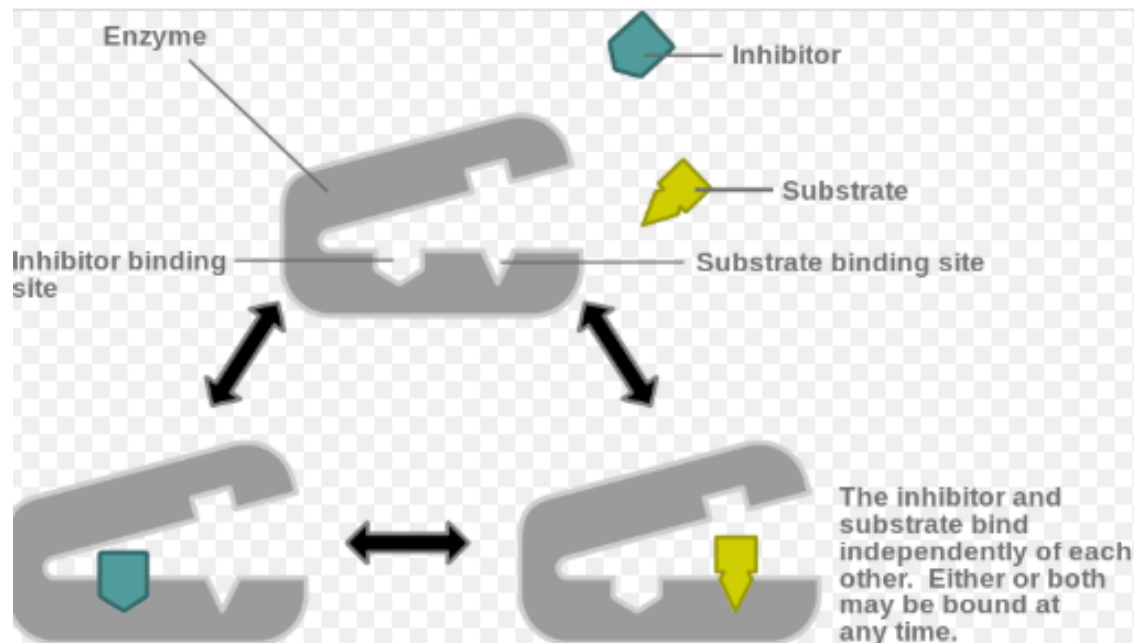
En présence de ce type d'inhibiteur :

K_M est augmentée
 V_M n'est pas modifiée

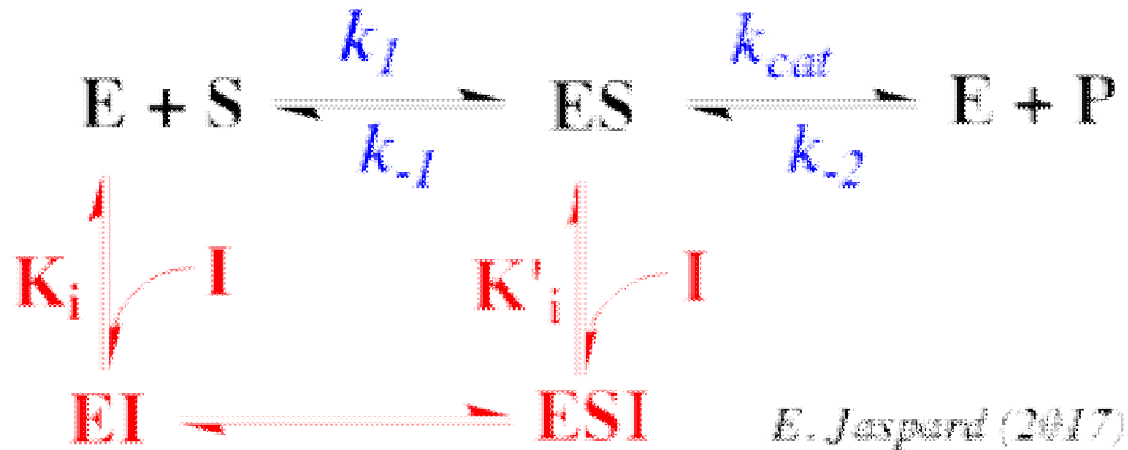
Inhibition non compétitive

Un inhibiteur non compétitif n'a aucune influence sur la fixation du substrat: les sites de fixation du substrat et de l'inhibiteur sont distincts.

En conséquence, l'inhibiteur se fixe à l'enzyme libre E et au complexe ES ; de même, le substrat se fixe à l'enzyme libre E et au complexe EI. Les inhibiteurs non compétitifs n'ont pas d'homologie structurale avec le substrat.



Inhibition non compétitive

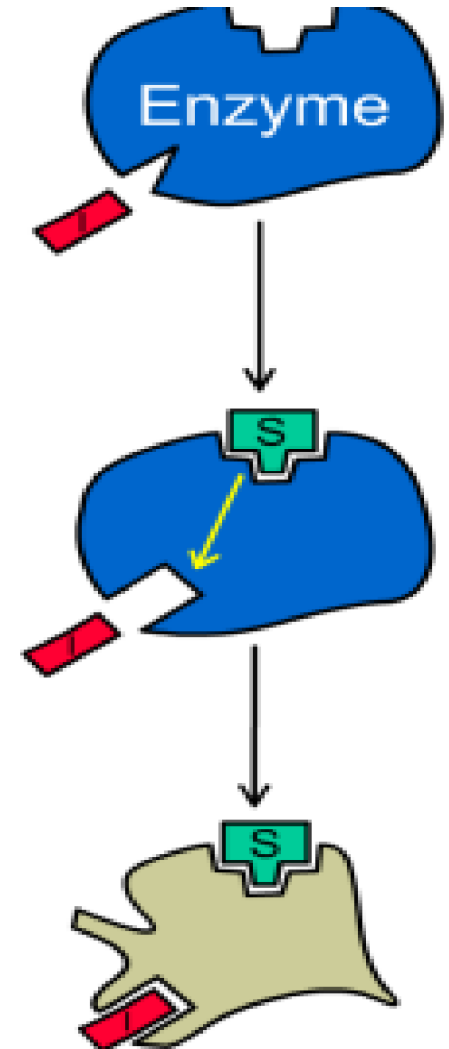


En présence de ce type d'inhibiteur
 V_M est diminuée
 K_M n'est pas modifiée

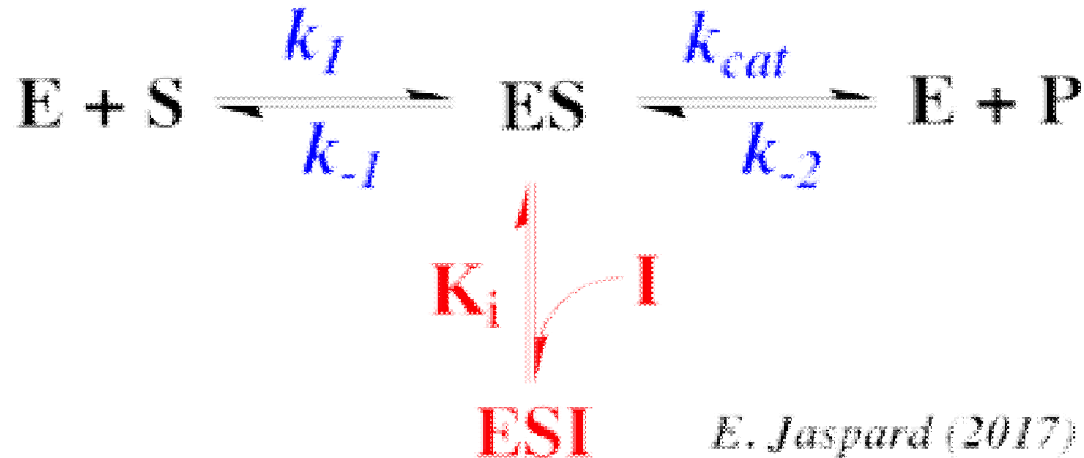
Inhibition incompétitive ou anticompétitive

Ce type d'inhibition est aussi appelé inhibition par blocage du complexe intermédiaire.

Cette appellation décrit mieux le mécanisme : l'enzyme et le substrat forment d'abord le complexe enzyme-substrat (le complexe intermédiaire), puis l'inhibiteur se fixe à ce complexe.



Inhibition incompétitive



En présence de ce type d'inhibiteur :

Les deux paramètres (V_M et K_M) sont modifiés

- V_M est diminuée
- K_M est diminuée

Les enzymes peuvent nécessiter une activation particulière pour être opérationnelles. C'est le cas des **proenzymes**.

EX 1: Protéases du suc pancréatique

Les protéases de suc pancréatique sont secrétées par les acinus pancréatiques sous forme de proenzymes: **chymotrypsinogène, proélastase et procarboxypeptidase**.

Sous cette forme, elles sont inactives.

Une fois dans la lumière intestinale, elles sont activées par la coupure d'un fragment peptidique, amorcée par l'**entéropeptidase**

EX 1: Système du complément

Chymotrypsinogène $\xrightarrow{\text{Entéropeptidase}}$ **Chymotrypsine**

Proélastase $\xrightarrow{\text{Chymotrypsine}}$ **Elastase**

Procarboxypeptidase $\xrightarrow{\text{Elastase}}$ **Carboxypeptidase**

Les enzymes allostériques ont une structure quaternaire (sous-unités). Chaque sous-unités présentent au moins un site actif et un site allostérique d'une molécule effecteur.

La sous-unité subit un changement de conformation et ce changement se transmet à l'ensemble de la molécule. La fixation de la première molécule sur l'enzyme favorise la fixation des suivants . On dit qu'il y a un **effet coopératif** .

L'enzyme allostérique sont des oligomères, formés par plusieurs sous unités appelées: Protomères

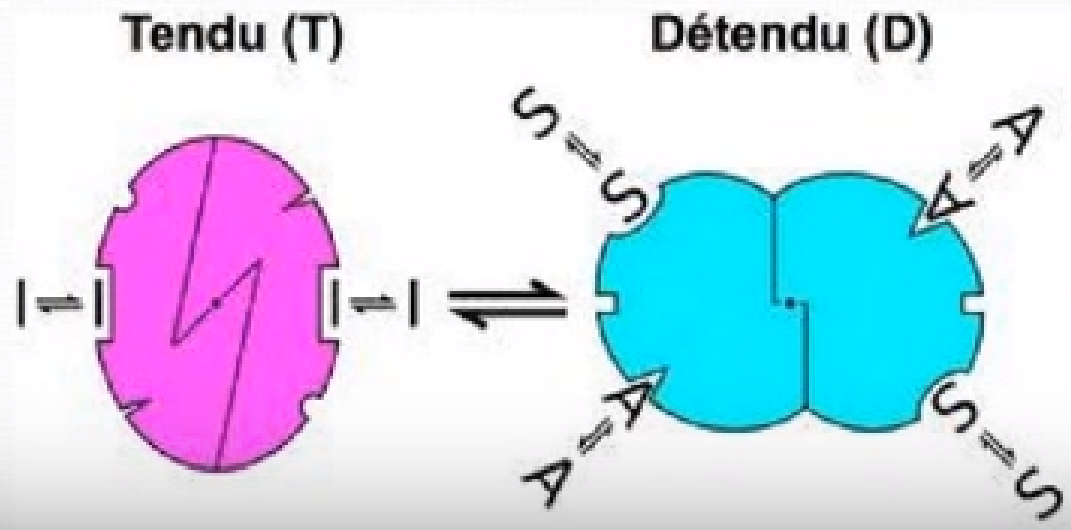
Ils contiennent :

Plusieurs sites actifs identiques
Plusieurs sites allostériques identiques

l'enzyme allostérique est un ensemble de sous-unités spécifiques associées. Celles ci coopèrent en vue d'une même fonction. C'est une structure quaternaire.

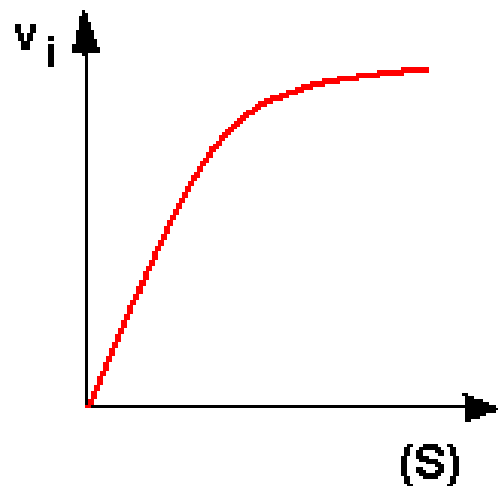
La transition allostérique modifie les forces de liaisons qui associent les sous-unités entre elles sans aller à l'état de dissociation. La molécule entière se trouve soit dans un état **tendu (T)** soit dans un état **relâché (R)**. Cette transformation de la molécule est **réversible**.

T: Faible affinité
pour S
R: Forte affinité
pour S

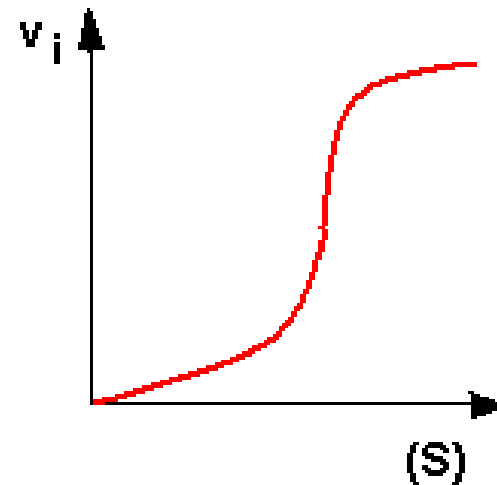


Les enzymes allostériques assurent la régulation des chaînes métaboliques. Cette faculté est due à la présence d'un site régulateur (en plus du site actif) qui réagit avec des modulateurs qui viennent d'ailleurs .

Elles sont caractérisées par des comportements cinétiques différents de ceux des enzymes michaeliennes (cinétique **Hyperbolique**), les enzymes allostérique présentent une cinétique **Sigmoïde**



حركية هذلولوية
(Cinétique hyperbolique)



حركية سينية
(Cinétique sigmoïde)