

LES ENZYMES : DES CATALYSEURS BIOLOGIQUES

- D'un point de vue structurale, les enzymes sont des protéines.
- D'un point de vue fonctionnel, les enzymes sont des catalyseurs.

1. Quelques définitions utilisées en enzymologie

- ✓ **Ligand** :,
Élément chimique ayant une liaison spécifique avec une protéine.
Pour chaque ligand, il existe au moins un site de fixation sur la protéine qui le reçoit.
- ✓ **Substrat** :
Molécule qui entre dans une réaction pour y être transformée grâce à l'action catalytique d'une enzyme.
- ✓ **Produit** :
Molécule qui apparaît au cours d'une réaction enzymatique.

L'enzymologie est l'étude des enzymes.

L'enzymologie est donc une branche de la biochimie qui décrit :

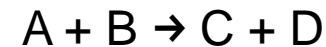
- vitesse des réactions enzymatiques.
- paramètres susceptibles d'influencer la vitesse (exemples : température, pH, effecteurs...).

2. Principe de la catalyse enzymatique

2.1. Notion de catalyseur

2.1.1. Diagramme énergétique d'une réaction

Soit la réaction suivante :

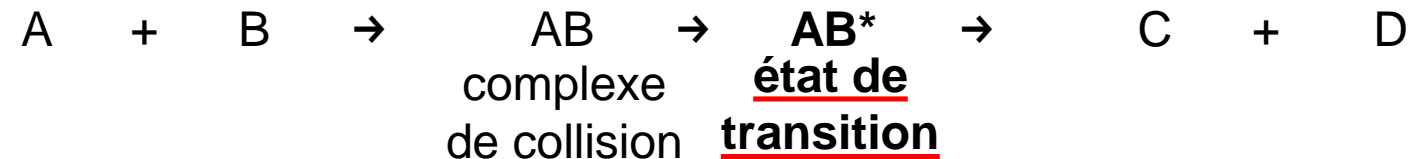


En solution :

- A et B sont entourés d'une couronne d'hydratation,
- A et B sont plus ou moins dilués donc éloignés l'un de l'autre,
- A et B sont plus ou moins réactifs (énergie cinétique).

A et B peuvent donc avoir des difficultés à réagir ensemble.

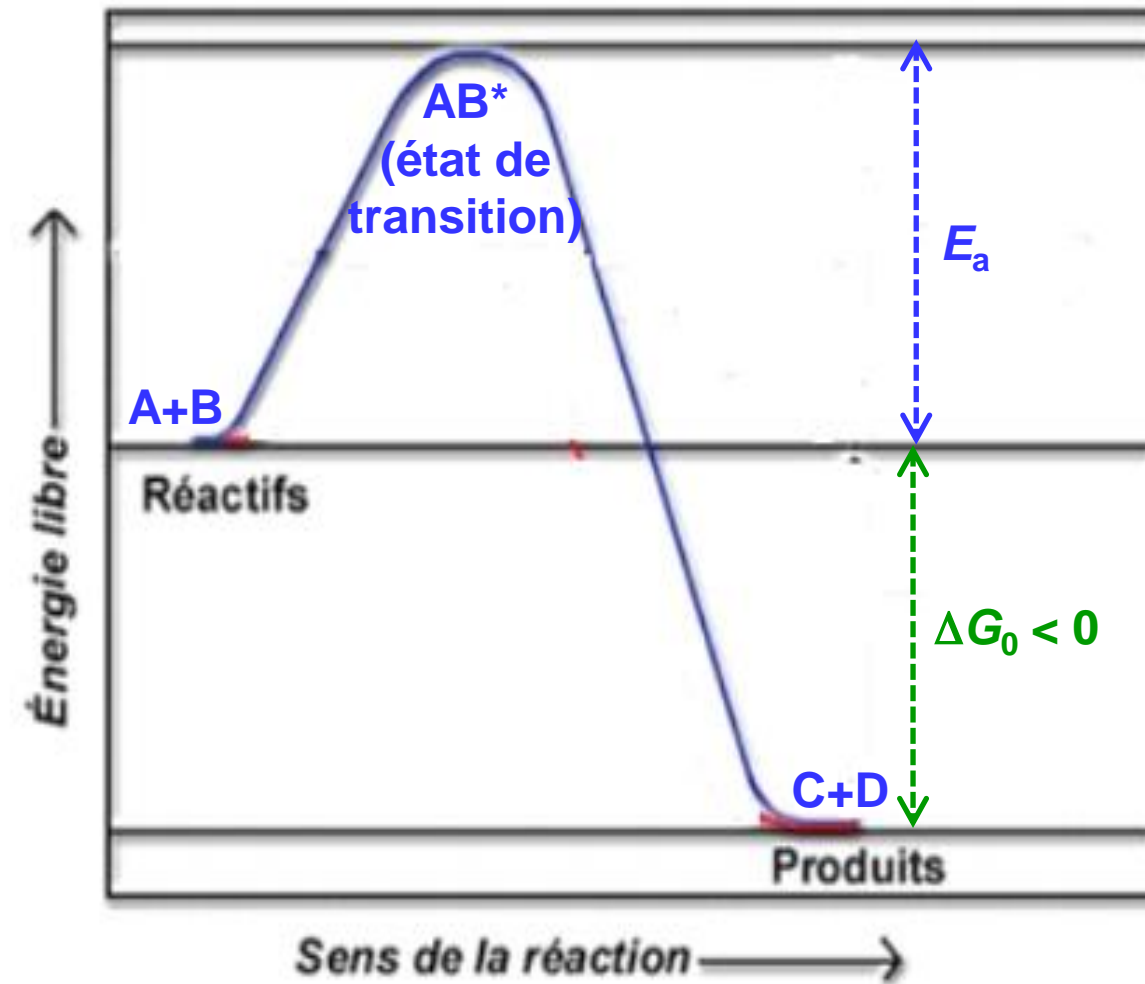
En étudiant plus précisément les étapes de la réaction on a :



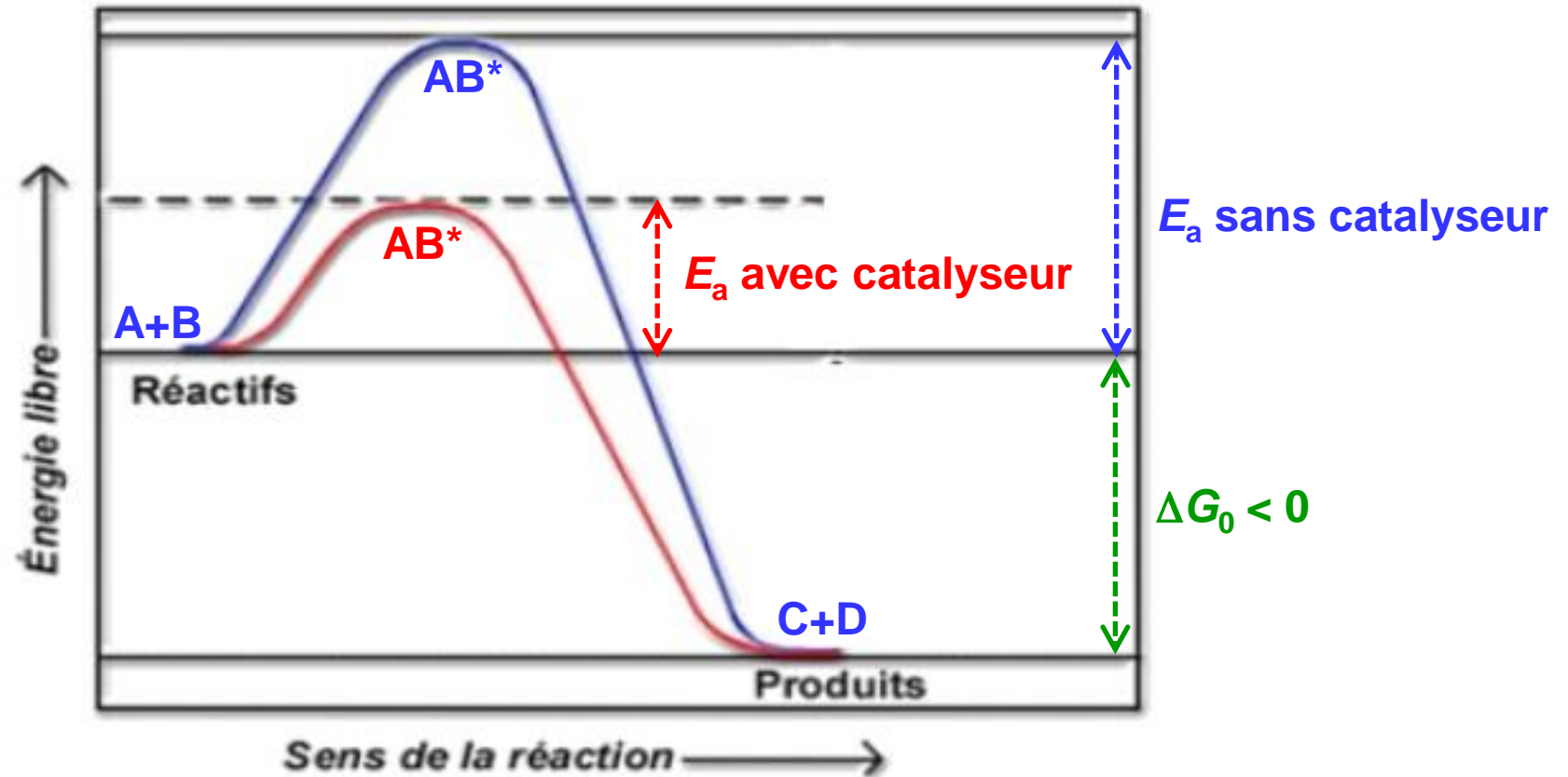
Pour subir une transformation chimique, un composé doit être activé, c'est-à-dire placé dans un état de transition.

Énergie d'activation, notée E_a (ou ΔG^{++}) = énergie nécessaire pour atteindre l'état de transition.

L'aspect énergétique de cette réaction est représenté par le diagramme énergétique suivant :



2.1.2. Effet d'un catalyseur sur le diagramme énergétique d'une réaction

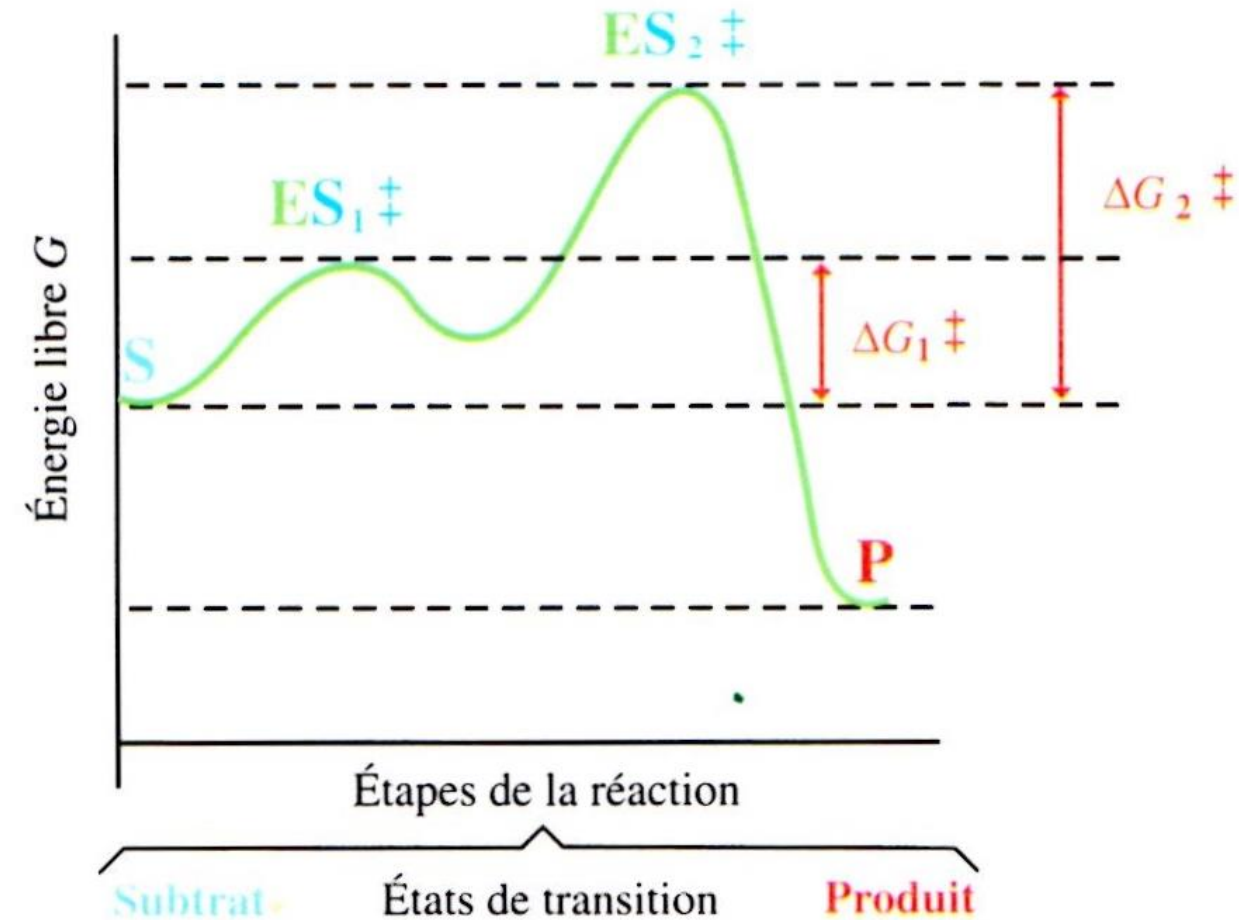


Un catalyseur :

- abaisse l' E_a d'une réaction,
- reste intact à la fin de la réaction,
- agit à très faibles doses,
- ne modifie pas l'équilibre d'une réaction,
- n'accélère que les réactions thermodynamiquement possibles.

2.2. Effet d'une enzyme sur le diagramme énergétique d'une réaction

Le diagramme énergétique d'une réaction enzymatique est le suivant :



Une enzyme accélère encore plus la vitesse de la réaction en passant par des intermédiaires réactionnels nécessitant des énergies d'activation moindres par rapport à un catalyseur chimique.

Enzyme = réacteur moléculaire :

- elle facilite la rencontre des substrats au niveau du site actif.
- elle oriente les substrats dans une position propice à la formation du complexe de collision.
- elle permet l'élimination de la couronne d'hydratation entourant le ou les substrats car le site actif est souvent une « poche » hydrophobe.
- elle stabilise les états de transition, et donc facilite le passage des états initiaux aux états finaux.
- elle augmente la réactivité du ou des substrats.

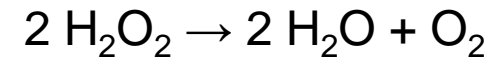
2.3. Particularités des enzymes par rapport aux catalyseurs chimiques

Les enzymes sont des biocatalyseurs ayant deux grandes particularités par rapport aux catalyseurs chimiques :

- l'efficacité d'action.
- la spécificité.

2.3.1 Efficacité d'action des enzymes

Exemple : la réaction de dismutation du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) :



- réaction spontanée : $E_a = 75 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
- en présence de platine (catalyseur chimique) : $E_a = 50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$
- en présence de la catalase (enzyme) : $E_a = 25 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$

⇒ Une enzyme est plus efficace qu'un catalyseur chimique.

De plus , l'utilisation des enzymes est plus simple que les catalyseurs chimiques car ces derniers peuvent nécessiter des conditions opératoires rudes (fortes températures, fortes pressions, pH extrêmes, etc...) alors que les enzymes agissent dans des conditions favorables avec la vie (pour la plupart d'entre-elles) : pH proche de la neutralité, températures comprises entre 25 et 40°C, pression proche de la pression atmosphérique.

Les enzymes permettent également d'obtenir des produits finis et connus (pas de sous-produits) en respectant la stœchiométrie des réactions (ce n'est pas forcément le cas des catalyseurs chimiques).

2.3.1 Spécificité des enzymes

Les enzymes sont caractérisées par une double spécificité :

- spécificité vis-à-vis du substrat.
- spécificité vis-à-vis de la réaction catalysée.

2.3.1.1. Spécificité enzymatique vis-à-vis du substrat

On distingue :

- ✓ Spécificité absolue :
L'enzyme ne catalyse la réaction que d'un seul et unique substrat.
Exemple : l'uréase n'agit que sur l'urée.
- ✓ Spécificité large :
L'enzyme reconnaît et agit sur une famille de molécules apparentées au substrat.
Exemple : l'hexokinase qui agit sur plusieurs hexoses.
- ✓ Spécificité de liaison :
L'enzyme reconnaît et agit sur un type de liaison particulier qui peut être présente dans différents substrats.
Exemples : la β -D-galactosidase est spécifique de la liaison β -osidique présente dans le β -D-galactose mais aussi de tous les autres β -D-galactosides, les estérases (liaisons esters), les amidases (liaisons amides), les peptidases (liaisons peptidiques), *etc.*

✓ **Spécificité de groupement :**

L'enzyme reconnaît et agit sur un **groupement chimique particulier**.

Exemples : les phosphatases.

✓ **Stéréospécificité :**

Les enzymes sont capables de **différencier des molécules très semblables comme des énantiomères**.

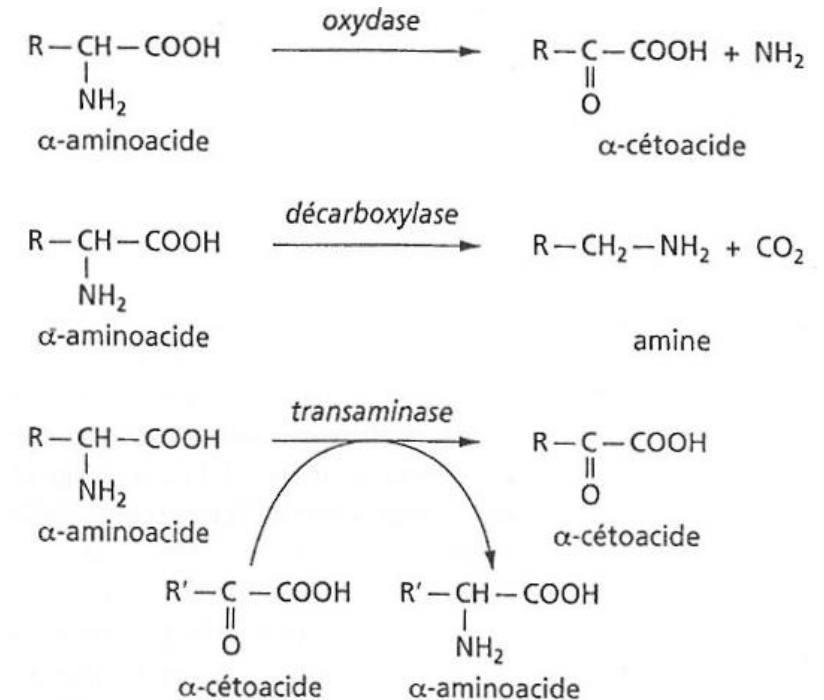
Exemples : L-aminoacide oxydase ne reconnaissant et n'agissant que sur les acide aminés de série L, la lactate deshydrogénase permet la deshydrogénation du L-lactate.

2.3.1.2. Spécificité enzymatique vis-à-vis d'une réaction catalysée

Une enzyme catalyse un seul type de réaction.

Exemple :

Un même acide α -aminé peut être substrat de plusieurs enzymes :

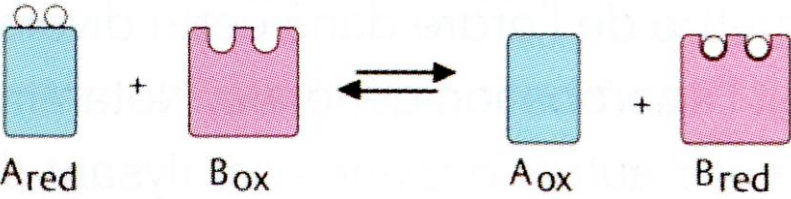


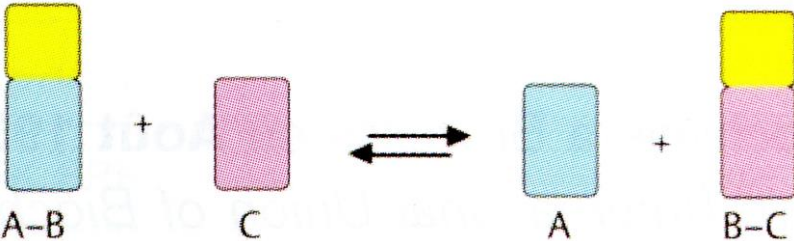
2.3.1.3. Classification des enzymes

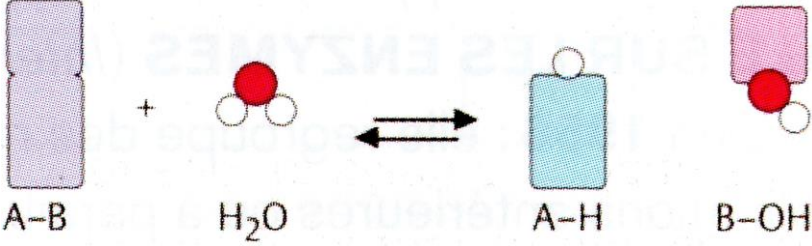
Les spécificités de réaction et de substrat ainsi que le mode d'action des enzymes sont à l'origine de leur classification.

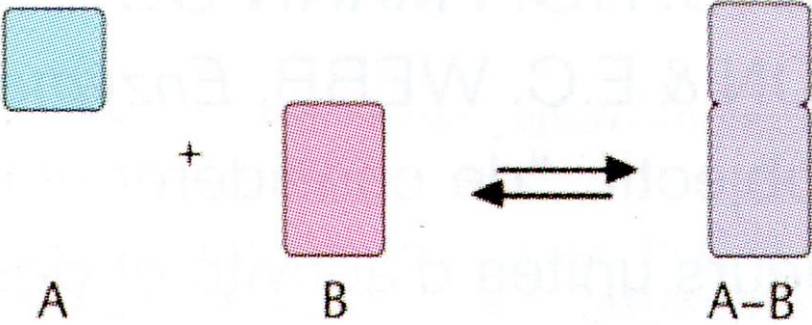
Chaque enzyme est identifiée par un code : **EC x.y.z.t** (x, y, z et t sont des nombres).

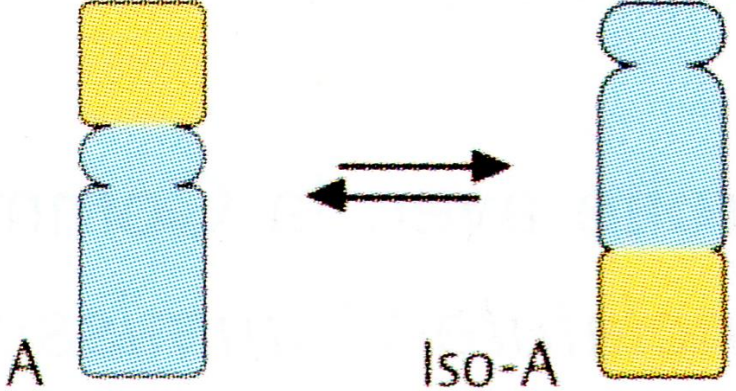
- EC = **Enzyme Commission**.
- x = **classe** de l'enzyme, précise le **type de réaction catalysée**.
- y = **sous-classe** de l'enzyme, précise le **groupement ou la liaison chimique** sur lesquels porte la réaction catalysée (nature du substrat).
- z = **famille** ou **sous-sous classe** de l'enzyme, précise les **autres intervenants de la réaction**.
- t = **numéro d'ordre** ou **d'identification** de l'enzyme, spécifie la réaction catalysée (unique au sein d'une famille d'enzymes).

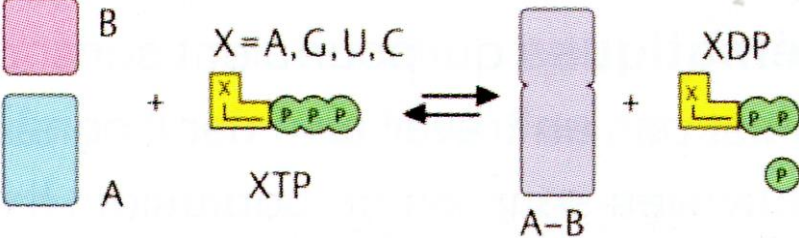
Classe de l'enzyme (type de réaction catalysée)	Sous-classe de l'enzyme (nature du substrat)	Sous-sous classe de l'enzyme (autres intervenants impliqués dans la réaction)
<p>EC 1 : <u>oxydoréductases</u></p> <p>○ = équivalents réducteurs</p>  <p>Ared + Box ⇌ Aox + Bred</p> <p><u>Transfert d'électrons</u> accompagné ou non de protons. Fonctionnent avec des <u>coenzymes rédox</u> (« équivalents réducteurs ») agissant comme accepteurs intermédiaires et transitoires d'électrons.</p>	<p>Indique le <u>donneur d'électron(s)</u> sur lequel agit l'enzyme.</p> <p>Exemples :</p> <p>EC 1.1 : groupement CH-OH EC 1.2 : groupement C=O EC 1.3 : groupement CH-CH EC 1.4 : groupement CH-NH₂ EC 1.5 : groupement CH-NH <i>etc.</i></p>	<p>Indique la <u>nature de l'accepteur d'électron(s)</u>.</p> <p>Exemples :</p> <p>EC 1.y.1 : NAD⁺ ou NADP⁺ EC 1.y.2 : cytochrome EC 1.y.3 : O₂ EC 1.y.4 : -S-S- (pont disulfure) EC 1.y.5 : quinone / composé similaire <i>etc.</i></p>

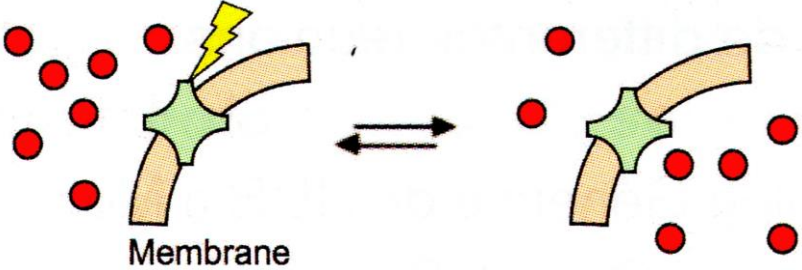
Classe de l'enzyme (type de réaction catalysée)	Sous-classe de l'enzyme (nature du substrat)	Sous-sous classe de l'enzyme (autres intervenants impliqués dans la réaction)
<p>EC 2 : <u>Transférases</u></p>  <p><u>Transfert de groupement(s)</u> d'une molécule à une autre. Fonctionnent avec des <u>coenzymes de transfert de groupements.</u></p>	<p>Indique la <u>nature du groupement chimique transféré.</u></p> <p>Exemples :</p> <ul style="list-style-type: none"> EC 2.1 : groupement monocarboné EC 2.2 : groupement C=O EC 2.3 : groupement acyle EC 2.4 : groupement glycosyle EC 2.5 : groupement alkyle ou aryle <i>etc.</i> 	<p>Indique la <u>fonction acceptrice</u> ou précise le <u>type du groupement chimique transféré.</u></p> <p>Exemples :</p> <ul style="list-style-type: none"> EC 2.1.1 : transfert d'un CH₃ EC 2.3.3 : transfert d'un aminoacyle EC 2.4.1 : transfert d'un hexosyle EC 2.4.2 : transfert d'un pentosyle <i>etc.</i>

Classe de l'enzyme (type de réaction catalysée)	Sous-classe de l'enzyme (nature du substrat)	Sous-sous classe de l'enzyme (autres intervenants impliqués dans la réaction)
<p>EC 3 : <u>Hydrolases</u></p>  <p><u>Rupture de diverses liaisons</u> avec l'intervention de <u>molécules d'eau</u>.</p>	<p>Indique la <u>catégorie de la liaison chimique rompue</u>.</p> <p>Exemples :</p> <p>EC 3.1 : hydrolyse de liaisons ester (estérases)</p> <p>EC 3.2. : hydrolyse de liaisons osidiques (glycosylases)</p> <p>EC 3.3 : hydrolyse de liaisons éther</p> <p>EC 3.4 : hydrolyse de liaisons peptidiques (peptidases)</p> <p><i>etc.</i></p>	<p>Indique le <u>type de liaison chimique</u> dans la catégorie de liaison hydrolysée.</p> <p>Exemples :</p> <p>EC 3.1.1 : liaisons carboxyl-esters</p> <p>EC 3.2.1 : liaisons O-glycosidiques</p> <p>EC 3.4.1 : aminopeptidases</p> <p>EC 3.4.21 : sérine endopeptidases</p> <p><i>etc.</i></p>

Classe de l'enzyme (type de réaction catalysée)	Sous-classe de l'enzyme (nature du substrat)	Sous-sous classe de l'enzyme (autres intervenants impliqués dans la réaction)
<p>EC 4 : <u>Lyases ou synthases</u></p>  <p><u>Addition ou élimination d'un groupement</u> par d'autres voies que l'hydrolyse et l'oxydoréduction, avec <u>formation ou disparition d'une double liaison ou d'un cycle.</u></p>	<p>Indique les <u>atomes concernés par la formation, ou la rupture, de la liaison.</u></p> <p>Exemples :</p> <p>EC 4.1 : C-C lyases EC 4.2. : C=O lyases EC 4.3 : C-N lyases <i>etc.</i></p>	<p>Indique la <u>nature chimique du groupe ajouté, ou soumis à l'addition.</u></p> <p>Exemples :</p> <p>EC 4.1.1 : carboxy-lyases EC 4.2.2 : agit sur des polysaccharides EC 4.3.3 : amine-lyases <i>etc.</i></p>

Classe de l'enzyme (type de réaction catalysée)	Sous-classe de l'enzyme (nature du substrat)	Sous-sous classe de l'enzyme (autres intervenants impliqués dans la réaction)
<p>EC 5 : <u>Isomérase</u></p>  <p><u>Inversion de configuration</u> = transfert de groupement(s) à l'intérieur d'une molécule sans modification de la formule brute.</p>	<p>Indique le <u>type de réaction d'inversion de configuration.</u></p> <p>Exemples :</p> <p>EC 5.1 : racémases et épimérase</p> <p>EC 5.2 : cis-trans isomérase</p> <p>EC 5.3 : oxydoréductases intramoléculaires</p> <p>EC 5.4 : transférase intramoléculaires <i>etc.</i></p>	<p>Indique la <u>molécule ou le groupement chimique concerné</u> par l'inversion de configuration.</p> <p>Exemples :</p> <p>EC 5.1.1 : acides aminés</p> <p>EC 5.3.1 : oses</p> <p>EC 5.4.1 : groupement phosphate <i>etc.</i></p>

Classe de l'enzyme (type de réaction catalysée)	Sous-classe de l'enzyme (nature du substrat)	Sous-sous classe de l'enzyme (autres intervenants impliqués dans la réaction)
<p>EC 6 : <u>Ligases ou synthétases</u></p>  <p><u>Association</u> = <u>formation de liaison(s) nécessitant de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP</u> ou d'un autre nucléotide tri-phosphate équivalent.</p>	<p>Indique les <u>atomes impliqués dans la formation de la nouvelle liaison.</u></p> <p>Exemples :</p> <p>EC 6.1 : C-O EC 6.2 : C-S EC 6.3 : C-N EC 6.4 : C-C <i>etc.</i></p>	<p>Indique la <u>fonction chimique impliquée dans la formation de la liaison.</u></p> <p>Exemples :</p> <p>EC 6.1.1 : liaison aminoacyl-ARNt EC 6.2.2 : liaison acétate-CoA EC 6.3.2 : liaison peptidique <i>etc.</i></p>

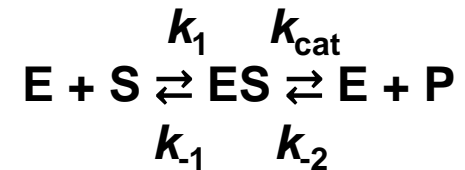
Classe de l'enzyme (type de réaction catalysée)	Sous-classe de l'enzyme (nature du substrat)	Sous-sous classe de l'enzyme (autres intervenants impliqués dans la réaction)
<p>EC 7 : <u>Translocases</u></p>  <p>Membrane</p> <p><u>Translocation à travers une membrane</u> d'ions (H^+, autres cations ou anions) ou de molécules (acides aminés, peptides, glucides, dérivés...).</p> <p>Beaucoup de translocases <u>nécessitent l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP.</u></p>	<p>Indique le <u>type d'ions ou de molécules transloqués.</u></p> <p>Exemples :</p> <p>EC 7.1 : translocation d'H^+</p> <p>EC 7.2 : translocation de cations inorganiques</p> <p>EC 7.3 : translocation d'anions inorganiques et leurs chélates</p> <p>EC 7.4 : translocations d'acides aminés et de peptides <i>etc.</i></p>	<p>Indique la <u>réaction qui fournit l'énergie</u> pour la translocation (si elle est nécessaire).</p> <p>Exemples :</p> <p>EC 7.y.1 : réactions d'oxydoréduction</p> <p>EC 7.y.2 : hydrolyse d'un NTP</p> <p>EC 7.y.3 : hydrolyse d'un diphosphate</p> <p>EC 7.y.4 : réaction de décarboxylation <i>etc.</i></p>

3. Caractéristiques moléculaires de la catalyse enzymatique

3.1. Formation du complexe enzyme-substrat ES

L'activité catalytique des enzymes est liée à la formation d'un complexe stéréospécifique Enzyme-Substrat transitoire.

La réaction de conversion d'un substrat S en un produit P, catalysée par une enzyme E, peut alors s'écrire sous la forme générale :



Avec :

- k_1 : constante de vitesse de l'association de S et E pour former le complexe ES.
- k_{-1} : constante de vitesse de la dissociation du complexe ES pour reformer E et S.
- k_{cat} : constante catalytique = constante de vitesse de la seconde étape qui détermine la vitesse de la réaction enzymatique de transformation du substrat en produit.
- k_{-2} : constante de vitesse de la réaction de retransformation de P en ES (négligeable en début de réaction, car peu de P formé).

Deux modèles permettent d'expliquer la stéréospécificité du complexe ES :

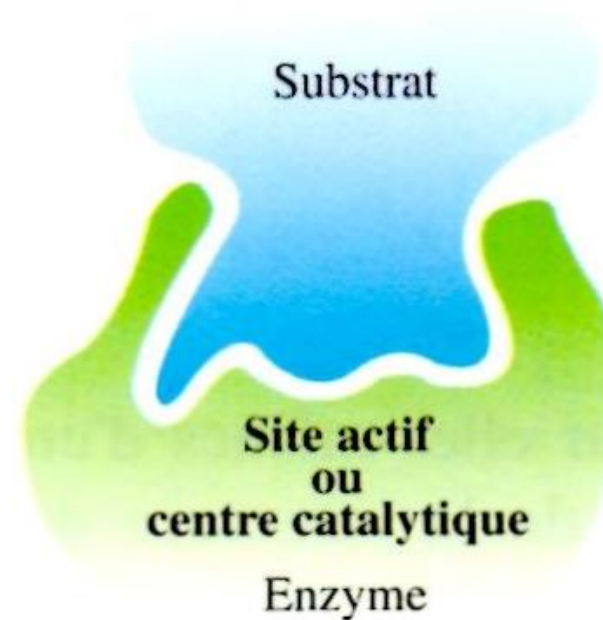
- le modèle « clé-serrure » de FISCHER,
- le modèle d'ajustement induit de KOSHLAND.

3.1.1. Modèle clé-serrure de Fischer

Ce modèle a été proposé en 1894 par Emil FISHER.

Ce modèle implique que l'enzyme ne se lie à un substrat qu'au niveau d'une seule région de l'enzyme, en forme de poche ou de crevasse, appelée **site actif (ou centre catalytique)**.

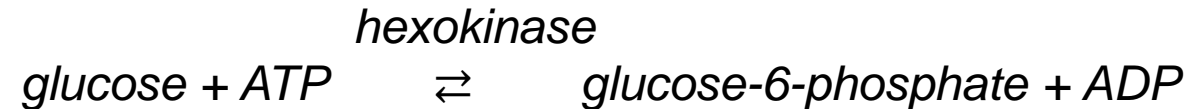
Le site actif de l'enzyme ne fixe que le S de conformation complémentaire à la sienne (comme une serrure n'accepte qu'une clé de forme complémentaire).



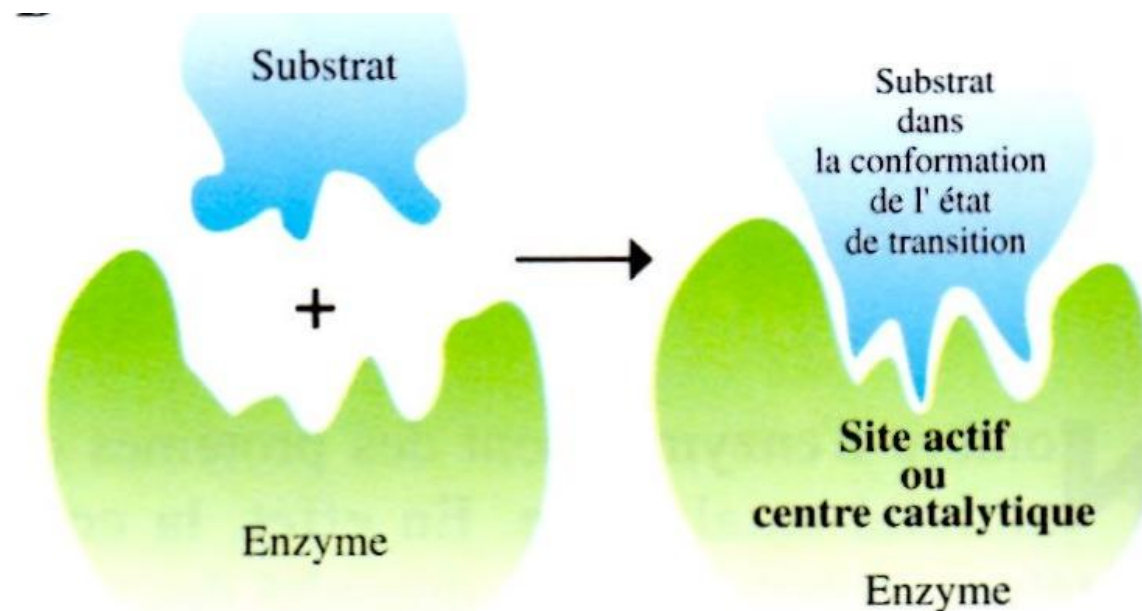
Dans ce cas, la répartition dans l'espace des résidus acides aminés dans le site actif de l'enzyme est strictement complémentaire de la structure du substrat.

3.1.2. Modèle de l'ajustement induit de Koshland

En 1958, Daniel E. KOSHLAN Jr. a repris et complété le modèle de FISHER, qui s'appuyait sur des études cinétiques de l'hexokinase qui catalyse la réaction suivante :



Pour s'unir, le site actif de l'enzyme et le substrat modifient quelque peu leur conformation pour adopter des conformations complémentaires, celle du substrat s'approchant alors de la structure de l'état de transition.



Par la suite ; la détermination de la structure 3D de l'héxokinase par cristallographie aux rayons X a permis de montrer que le site actif de cette enzyme existe effectivement sous deux conformations : une forme « ouverte » en l'absence de glucose, et une forme « fermée » après fixation du glucose dans le site actif.

A

L'héxokinase de levure (en vert) est constituée de deux domaines connectés par une région charnière.

B

Après fixation du glucose (en bleu), les deux domaines se rapprochent, isolant ainsi le site actif du milieu aqueux environnant

3.1.3. Liaisons impliquées dans la formation du complexe enzyme-substrat ES

Les liaisons impliquées dans la formation du complexe ES et dans la stabilisation de l'état de transition ES* sont **non covalentes** :

✓ **Les interactions ioniques** :

Entre le substrat et les chaînes latérales des résidus d'acides aminés chargés du site actif de l'enzyme (acides aminés acides : Glu, Asp ; acides aminés basiques : Lys, His, Arg).

✓ **Les liaisons hydrogène** :

Entre le substrat et les chaînes latérales des résidus d'acides aminés polaires chargés (Glu, Asp, Lys, His, Arg), d'acides aminés polaires non chargés (Asn, Gln, Ser, Thr, Tyr), et de certains acides aminés apolaires (Trp, Cys).

✓ **Les interactions hydrophobes** :

Entre des groupes apolaires du substrat et des régions hydrophobes riches en résidus d'acides aminés apolaires du site actif de l'enzyme.

✓ **Les forces de Van Der Waals** :

Entre le substrat et les chaînes latérales de résidus d'acides aminés électriquement neutres du site actif de l'enzyme (interactions électrostatiques).

3.2. Éléments structuraux impliqués dans la catalyse enzymatique

3.2.1. Rappels sur les niveaux d'organisation structurale des enzymes

Les enzymes sont des protéines globulaires qui présentent différents niveaux d'organisation structurale :

- structure primaire,
- structures secondaires et motifs protéiques,
- structures tertiaires et domaines protéiques,
- structure quaternaire.

Voir cours B3P : des acides aminés aux peptides et protéines

Certaines enzymes appelées proenzymes, ou zymogènes, sont synthétisées sous forme inactive par les cellules. Leur conversion en enzymes actives nécessite quelques modifications :

- hydrolyse d'un fragment de la chaîne,
- transfert d'un radical phosphoryle sur un acide aminé de l'enzyme,
- fixation d'un groupement prosthétique sur l'enzyme,
- transfert d'un radical alkyl ou acyl sur un acide aminé de l'enzyme.

Une holoprotéine est une protéine uniquement constituée de résidus d'acides aminés.

Une hétéroprotéine est une protéine constituée d'une partie protéique appelée apoprotéine (composée de résidus d'acides aminés) et d'une partie non-protéique appelée groupement prosthétique, fixé durablement.

3.2.2. Site actif et sites effecteurs

Site actif d'une enzyme = région de l'enzyme, en forme de « poche » ou de « crevasse » délimitant un environnement plus ou moins hydrophobe, et au sein de laquelle a lieu la réaction enzymatique.

Le site actif est composé de résidus d'acides aminés amenés à proximité grâce aux repliements de la chaîne polypeptidique.

La dénaturation par la chaleur, donc la perte de la structure spatiale de l'enzyme, entraîne une perte de l'activité catalytique de l'enzyme.

Au sein du site actif, on distingue :

✓ **le site de fixation** :

Le site de fixation regroupe les résidus acides aminés impliqués dans la **fixation du substrat** et dans la **formation du complexe ES**. Le site de fixation est donc responsable de la **spécificité de substrat de l'enzyme**.

✓ **le site catalytique** :

Le site catalytique regroupe les résidus d'acides aminés **impliqués dans le mécanisme catalytique** responsable de la **transformation du substrat en produit**.

Si l'enzyme est oligomérique, alors chaque sous-unité (ou protomère) possède un site actif.

En plus du site actif, les enzymes peuvent avoir des **sites effecteurs**, avec d'autres résidus acides aminés impliqués, qui **permettent l'activation ou l'inhibition de l'enzyme par fixation d'une molécule effectrice.**

3.2.3. Cofacteurs enzymatiques

Parfois, les enzymes nécessitent **obligatoirement la présence d'un cofacteur** pour fonctionner normalement.

Cofacteurs enzymatiques = **molécules non peptidiques, nécessaires au fonctionnement de l'enzyme** :

apoenzyme (inactive) + cofacteur \rightleftharpoons holoenzyme (active)

Parmi les cofacteurs enzymatiques, on distingue :

- des molécules inorganiques : **les ions métalliques**,
- des molécules organiques : **les coenzymes**.

3.2.3.1. Ions métalliques

Métallo-enzyme = **enzymes nécessitant des ions métalliques pour fonctionner.**

Les ions métalliques sont impliqués dans :

- ✓ **La structure de l'enzyme** :
Certains ions métalliques permettent une stabilisation locale de l'organisation de la chaîne polypeptidique.
Exemple : Ca^{2+} de l' α -amylase.

✓ **Le mécanisme catalytique de l'enzyme :**

Certaines enzymes nécessitent un ion métallique dans le mécanisme moléculaire de la catalyse.

Exemple : Fe^{2+} de certaines cytochrome oxydases.

✓ **L'activation de l'enzyme :**

Les ions métalliques peuvent réagir avec le substrat de l'enzyme pour augmenter sa réactivité.

Les ions métalliques peuvent également jouer le rôle d'activateur de l'enzyme.

Exemple : Ca^{2+} et les enzymes de l'hémostase.

Les ions métalliques sont apportés à l'organisme par l'alimentation.

3.2.3.2. Coenzymes

Du point de vue structural, les coenzymes sont des molécules :

- de nature non protéique,
- de petite taille,
- présentant souvent des systèmes actifs de type doubles liaisons conjuguées,
- ayant le plus souvent un noyau aromatique car souvent d'origine vitaminique.

Du point de vue fonctionnel, les coenzymes :

- sont responsables de la spécificité de réaction de l'enzyme,
- sont nécessaires en faible quantité,
- sont régénérés en fin de cycle métabolique.

Parmi les coenzymes, on distingue les **coenzymes vrais** qui sont des **groupements prosthétiques de l'enzyme**, et les **cosubstrats** qui sont des **coenzymes « libres »**.

Les coenzymes sont impliqués dans :

- **les réactions rédox** :

les coenzymes permettent de prendre en charge des électrons, accompagnés ou non de protons.

- **les réactions de transfert de groupement**.

- **les complexes multienzymatiques** (exemple : la pyruvate deshydrogénase)

Coenzyme	Nature du coenzyme	Rôle métabolique	Origine
Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD), Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADP)	cosubstrat	Réactions d'oxydoréductions impliquant le transfert d'un proton et de deux électrons	Vitamine B3, ou PP (nicotinamide)
Flavine MonoNucléotide (FMN), Flavine Adénine Dinucléotide (FAD)	groupement prosthétique	Réactions d'oxydoréductions impliquant le transfert d'un ou de deux électrons	Vitamine B2 (riboflavine)
Porphyries	groupement prosthétique	Réactions d'oxydoréductions	Non vitaminique
Ubiquinone	cosubstrat	Transferts de protons et d'électrons	vitaminique

Coenzyme	Nature du coenzyme	Rôle métabolique	Origine
Glutathion	cosubstrat	Transferts de protons et d'électrons	Non vitaminique
Acide ascorbique	cosubstrat	Transferts de protons et d'électrons	Vitamine C
Biotine (ou biocytine)	groupement prosthétique	Transferts de groupement monocarboné (carboxylation)	Vitamine H
Tétrahydrofolate	cosubstrat	Transferts de groupement monocarboné	Vitamine B9
S-AdénosylMéthionine (SAM)	cosubstrat	Transfert d'un groupement méthyle	Non vitaminique
Acide lipoïque (ou lipoamide)	groupement prosthétique	Transferts de groupement acyle	Non vitaminique
Coenzyme A	cosubstrat	Transfert de groupement acyle	Vitamine B5 (pantothénate)
Thiamine pyrophosphate (TPP)	groupement prosthétique	Transfert de groupement aldéhyde	Vitamine B1 (thiamine)
Phosphate de pyridoxal (PALP)	groupement prosthétique	Réactions du métabolisme des acides aminés	Vitamine B6 (pyridoxine)
3'-PhosphoAdénosine-5'-PhosphoSulfate (PAPS)	Cosubstrat	Transfert des groupements sulfate	Vitaminique

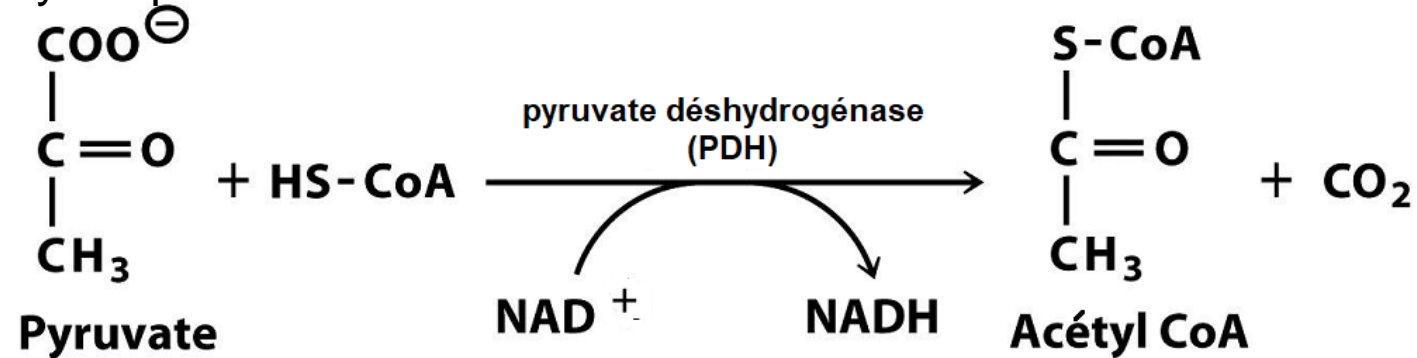
Coenzyme	Nature du coenzyme	Rôle métabolique	Origine
ATP	cosubstrat	Transfert de groupements phosphoryle	Non vitaminique
S-AdénosylMéthionine (SAM)	cosubstrat	Transfert d'un groupement méthyle	Non vitaminique

3.2.3.3. Exemple d'un complexe multienzymatique : la pyruvate deshydrogénase (PDH)

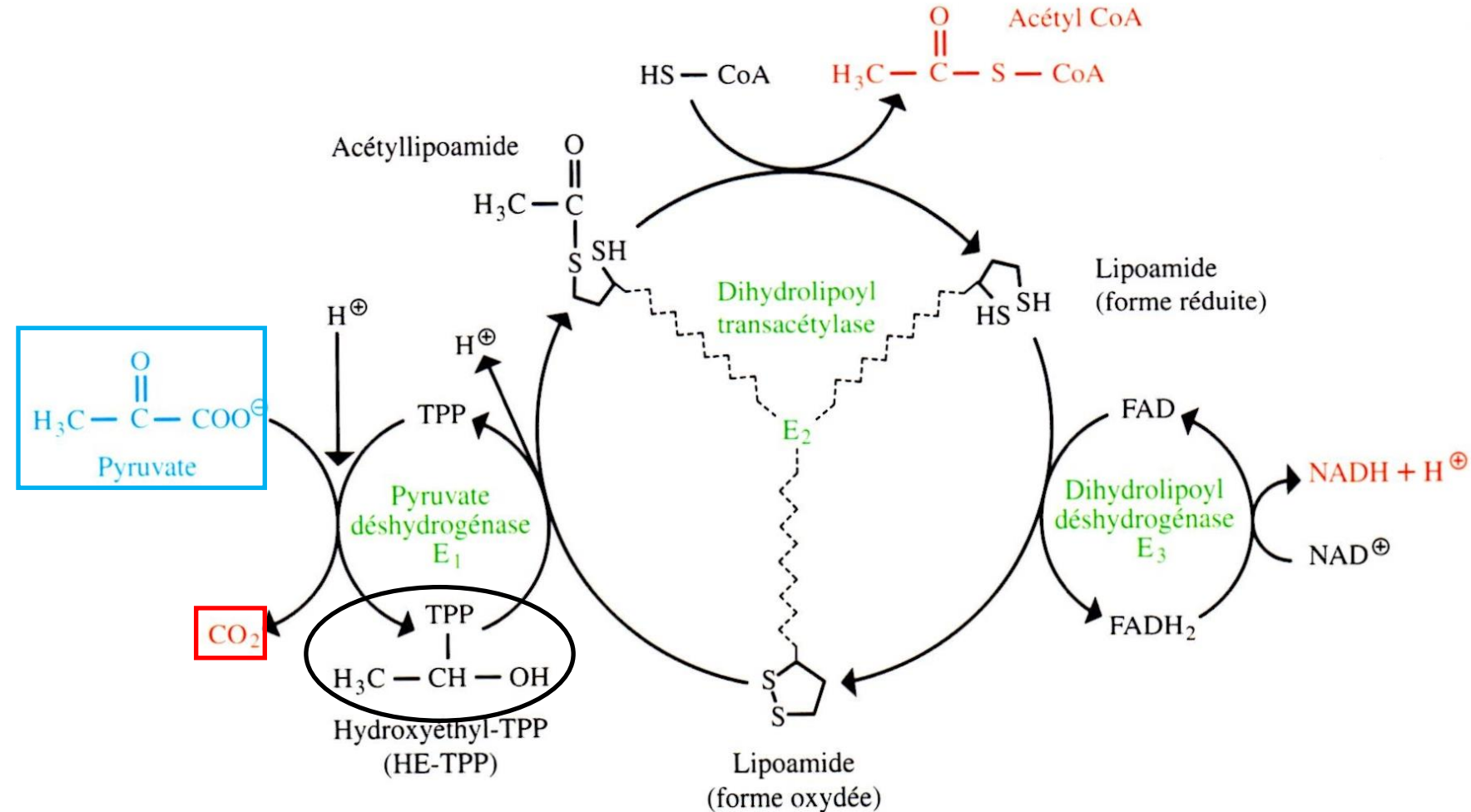
complexe multienzymatique = ensemble d'enzymes associées physiquement et catalysant des réactions successives d'une voie métabolique.

Chez les eucaryotes et les procaryotes, la décarboxylation oxydative du pyruvate en acétylCoA et CO₂ est une réaction catalysée par un complexe multienzymatique appelé Pyruvate DésHydrogénase (PDH).

Le bilan de la réaction catalysée par la PDH est :



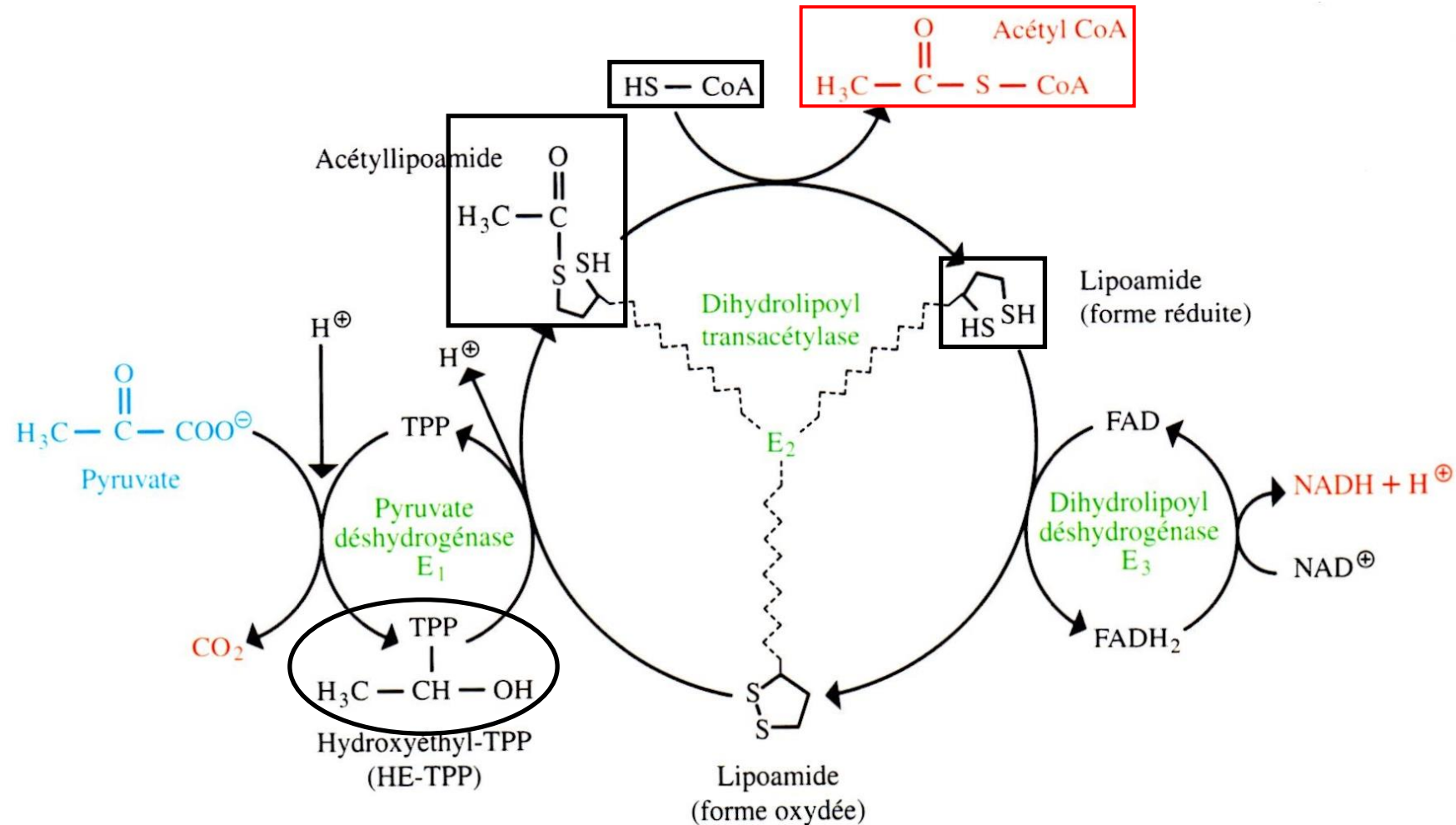
Dans le détail, la PDH est en fait un complexe multienzymatique qui associe 3 enzymes.



- La pyruvate décarboxylase, ou enzyme E1 :

Enzyme à thiamine pyrophosphate (TPP) qui réalise la décarboxylation du pyruvate avec libération de CO_2 .

Dans le détail, la PDH est en fait un complexe multienzymatique qui associe 3 enzymes.

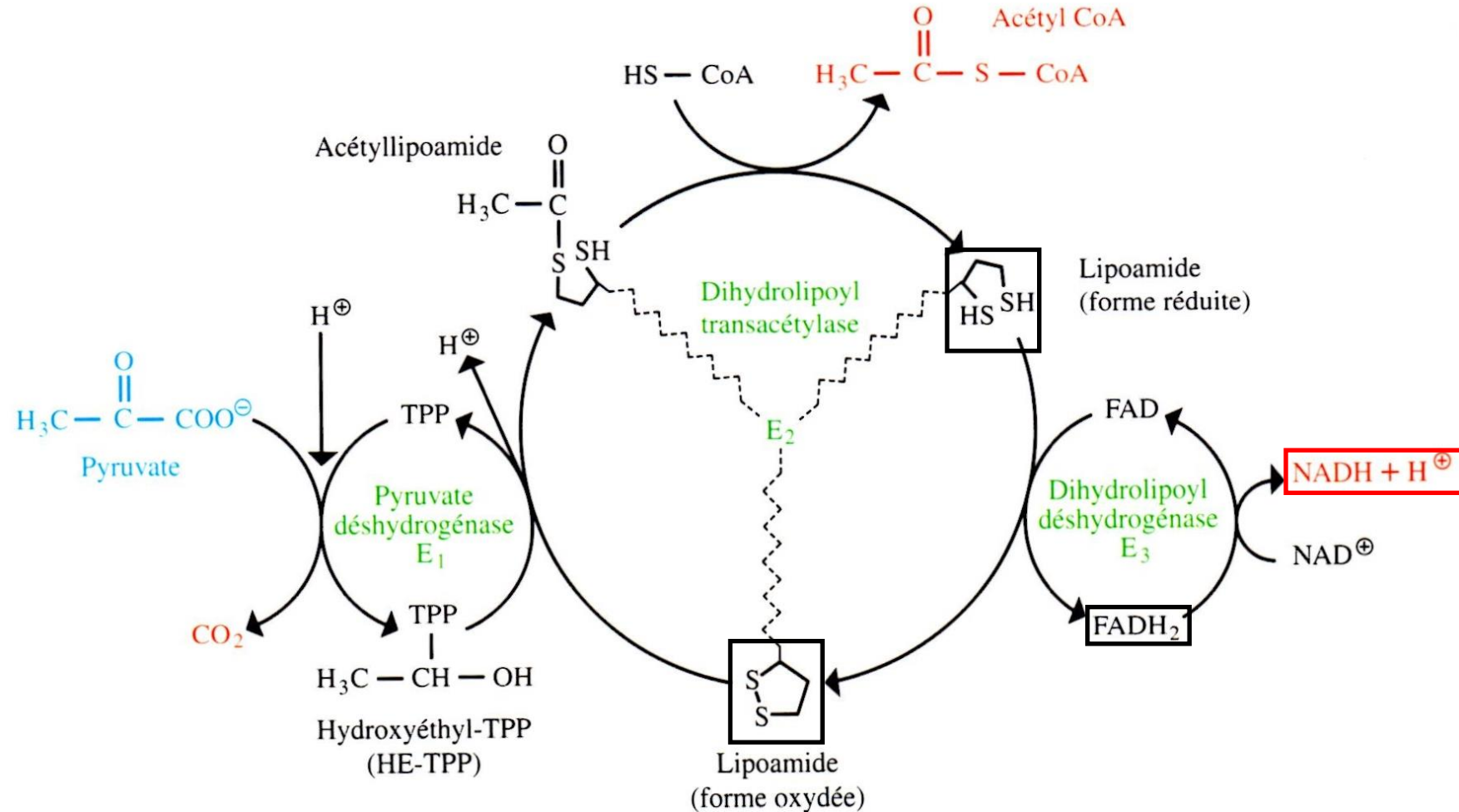


- La dihydrolipoamide acétyltransférèse, ou enzyme E2 :

Enzyme contenant de l'acide lipoïque (lipoamide) et qui réalise la transacétylation sur le coenzyme A.

L'acide lipoïque de l'enzyme E2 sert de « bras transporteur du substrat » entre les sites actifs des trois enzymes.

Dans le détail, la PDH est en fait un complexe multienzymatique qui associe 3 enzymes.



- La dihydrolipoamide déshydrogénase, ou enzyme E3 :

Enzyme à FAD dont le rôle est de d'oxyder le lipoamide réduite en forme oxydée pour lui permettre de recommencer un cycle réactionnel. La régénération de FAD est couplé à la réduction de NAD^+ en NADH, H^+ .

3.3. Mécanismes de la catalyse enzymatique

Il existe trois mécanismes principaux de la catalyse enzymatique :

- la catalyse acide-base spécifique,
- la catalyse acide-base générale,
- la catalyse covalente.

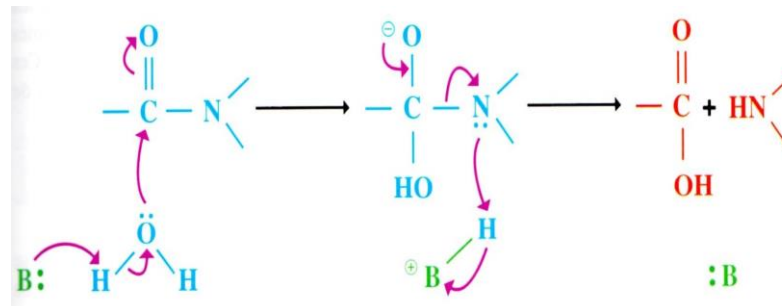
3.3.1. La catalyse acide-base spécifique

Catalyse acide-base spécifique = échange de proton entre le substrat et un acide aminé du site catalytique de l'enzyme.

Ainsi dans le cas d'une catalyse acide spécifique, un accepteur de proton B peut cliver une liaison C—H en captant un proton et en formant le carbanion correspondant :



Un accepteur de proton peut aussi cliver d'autres liaisons impliquant un atome de carbone, par exemple une liaison C—N, en créant l'équivalent de OH⁻ par captation d'un proton d'une molécule d'eau :



Inversement, un donneur de proton BH^+ peut céder un proton lorsque la réaction s'effectue en sens inverse (catalyse basique spécifique).

3.3.2. La catalyse acide-base générale

Les échanges s'effectuent entre des acides et des bases qui diffèrent de H^+ et OH^- (voir la définition de LEWIS d'un acide et d'une base).

3.3.3. La catalyse covalente

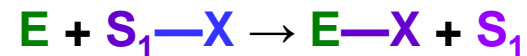
20 % des réactions enzymatique sont des catalyses covalentes.

De nombreuses réactions enzymatiques de transfert de groupes font intervenir ce mécanisme.

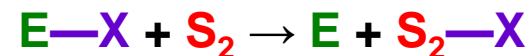
La catalyse covalente concerne essentiellement des réactions enzymatiques où plusieurs substrats sont impliqués.

Le mécanisme se déroule en **deux étapes** :

- le groupe X d'un substrat S_1-X est uni par covalence à l'enzyme E, ou à son coenzyme :



- le groupe X est transféré à un second substrat S_2 :

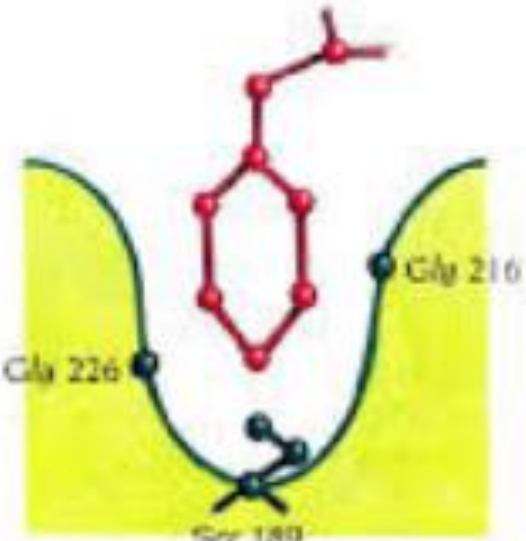
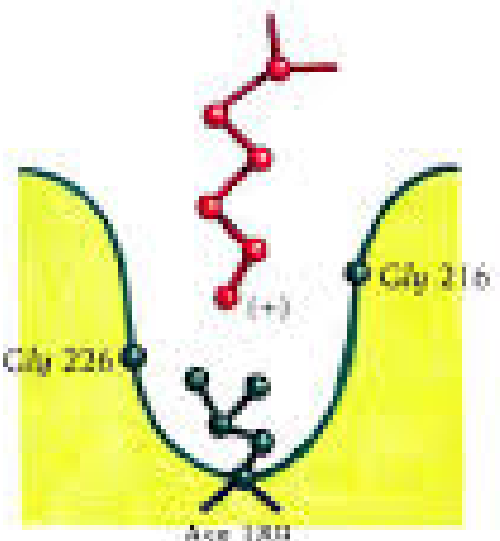
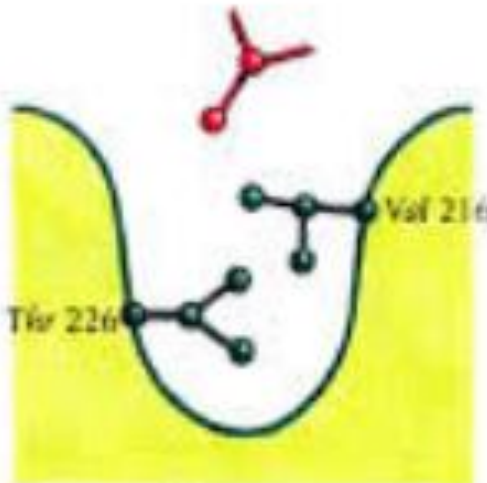


La catalyse covalente est effectuée par des résidus de sérine ou de cystéine.

3.3.4. Le mécanisme de la catalyse enzymatique dans le cas de sérine protéases : la chymotrypsine, la trypsine et l'élastase

Les sérine protéases forment une superfamille d'enzymes à laquelle appartiennent, entre autres, la chymotrypsine, la trypsine et l'élastase.

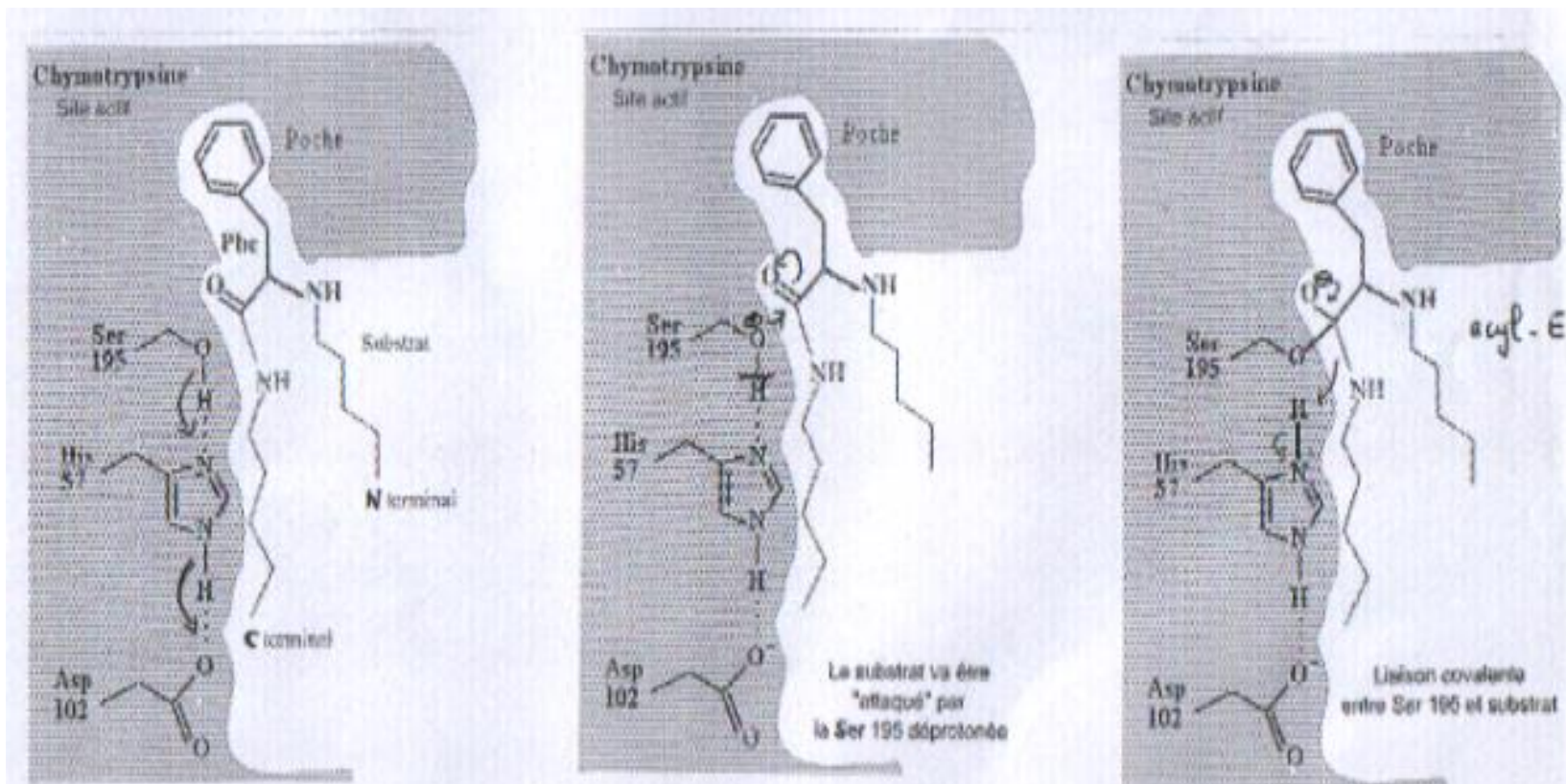
Ces trois enzymes **hydrolysent les liaisons peptidiques du côté α -carboxylique de résidu reconnu par le site de fixation du site actif de l'enzyme :**

	Chymotrypsine	Trypsine	Élastase
Poche catalytique	<p>Poche catalytique hydrophobe</p> 	<p>Un résidu d'acide aspartique chargé négativement au fond de la poche catalytique</p> 	<p>Plutôt réduite</p> 
Résidus d'acides aminés reconnus	Acides aminés hydrophobes, tels que Trp, Phé, Tyr et Mét	Arg et Lys ayant une charge positive sur leur chaîne latérale	Ala, Lys
Propriétés des chaînes latérales des résidus d'acides aminés reconnus	Volumineuses, hydrophobes	Volumineuses et chargées positivement	Courtes et peu volumineuses

Une fois le résidu d'acide aminé du peptide à hydrolyser stabilisé dans la poche catalytique, la catalyse de la réaction d'hydrolyse se déroule suivant le même mécanisme pour les 3 enzymes, avec l'intervention des acides aminés suivants : His57, Asp102 et Ser195. Ces trois acides aminés constituent ce qu'on appelle la triade catalytique.

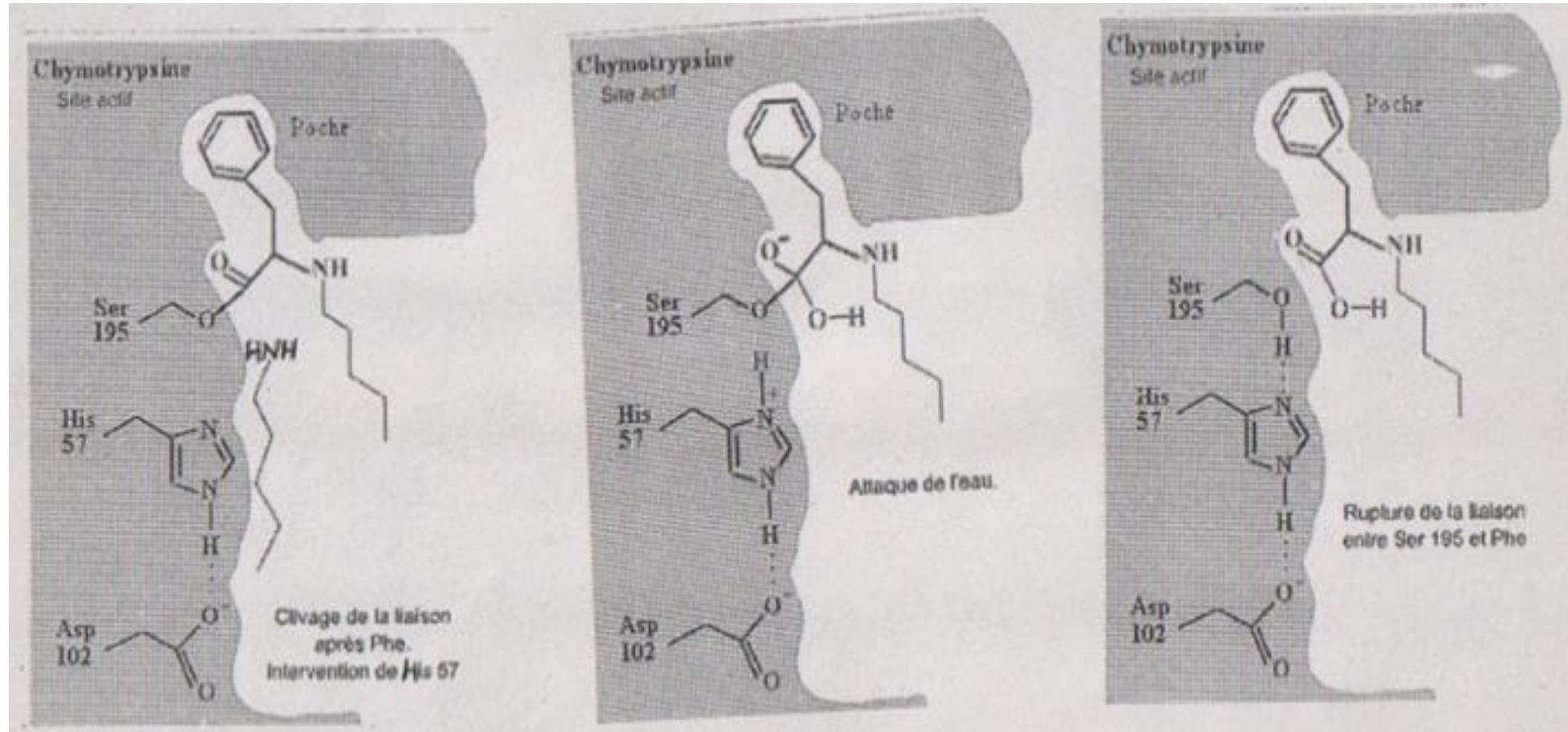
Le mécanisme catalytique de la chymotrypsine est le suivant :

- 1) L'attraction d'un proton de l'His57 par le carboxyle de l'Asp102 se transmet à la Ser195 et transforme sa fonction alcool (CH_2OH) en un nucléophile puissant CH_2O^- .
 CH_2O^- attaque le carbonyle de la liaison peptidique pour former un intermédiaire tétraédrique : acyl-enzyme.



2) Le clivage de la liaison après Phe fait intervenir l'His57.

L'attaque par une molécule d'eau libère la Ser 195 qui retrouve sa structure initiale.



Des expériences de mutagenèse dirigée sur la chymotrypsine ont montré que le remplacement de la Ser195 par de l'alanine inactive totalement l'enzyme.

4. Notions d'activité catalytique, de concentration d'activité catalytique, d'activité spécifique et d'activité spécifique molaire

✓ Activité catalytique, ou activité enzymatique :

L'activité catalytique, notée $z_{(\text{substrat})}$, est la **quantité d'enzymes nécessaire pour transformer une quantité définie de substrat (ou former une quantité définie de produit) par unité de temps, et dans des conditions opératoires définies.**

L'activité catalytique peut s'exprimer :

- en U (ou UI, ou UIE) : **1 U correspond à la quantité d'enzymes nécessaire pour transformer 1 μmol de substrat par minute dans les conditions opératoires définies.**
- en katal (kat) : **1 kat correspond à la la quantité d'enzymes nécessaire pour transformer une mole de substrat par seconde dans des conditions opératoires définies.**

La mesure de l'activité catalytique dans les conditions où $[S]_0 \gg [E]_0$ et $[S]_0$ saturante ($\geq 100 K_M$ en théorie, $\geq 10 K_M$ en pratique) permet de doser les enzymes présentes dans des échantillons.

$1 \text{ UI} = 1 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1} = 16,67 \text{ nmol}\cdot\text{s}^{-1} = 16,67 \text{ nkat}$ et $1 \text{ nkat} = 60\cdot 10^{-3} \text{ UI}$.

✓ Concentration d'activité catalytique :

La concentration d'activité catalytique d'une solution enzymatique, notée $b_{(\text{substrat})}$, est la **quantité de substrat transformé (ou de produit formé) par unité de temps et par litre de solution enzymatique, et dans des conditions expérimentales définies.**

Elle s'exprime en $\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$ de solution enzymatique ou en $\text{katal}\cdot\text{L}^{-1}$ de solution enzymatique.

$$b_{(\text{substrat})} = \frac{z_{(\text{substrat})}}{V_{\text{solution enzymatique}}}$$

✓ **Activité spécifique** :

L'activité spécifique, notée $z_{sp}(\text{substrat})$, est la **quantité de substrat transformé (ou de produit formé) par unité de temps et par unité de masse d'enzymes, et dans des conditions expérimentales définies.**

Elle s'exprime en **U·g⁻¹ d'enzymes** ou en **kat·g⁻¹ d'enzymes**.

$$z_{sp}(\text{substrat}) = \frac{z(\text{substrat})}{m_{\text{enzyme}}} = \frac{b(\text{substrat})}{\rho(\text{enzyme ; solution enzymatique})}$$

✓ **Activité spécifique molaire** :

L'activité spécifique molaire, notée $z_m(\text{substrat})$, est la **quantité de substrat transformé (ou de produit formé) par unité de temps et par mole d'enzyme, et dans des conditions opératoires définies.**

Elle s'exprime en **U·mol⁻¹ d'enzyme** ou en **kat·mol⁻¹ d'enzymes**.

$$z_m(\text{substrat}) = \frac{z(\text{substrat})}{n(\text{enzyme ; solution enzymatique})}$$

5. Les enzymes : cibles de régulation

- Activation de l'enzyme par clivage d'une proenzyme (zymogène).
- Modulation de l'activité de l'enzyme par modification covalente de l'enzyme (exemple : phosphorylation).
- Modulation de l'activité par liaison à des effecteurs (inhibiteurs/activateurs).
- Régulation de la quantité d'enzyme disponible (synthèse/dégradation plus ou moins importantes).