

L'enzymologie Partie 1

De la vraie sorcellerie



Quesaco ?

L'enzymologie est l'étude des propriétés **fonctionnelles** et **structurales** des enzymes.



ATTENTION

Les **réactions** qui nécessitent une enzyme
s'effectuent dans des conditions dans
lesquelles elles ne pourraient pas
normalement se faire sans l'enzyme ++

Substrat



= macromolécule

ENZYME = protéine (SAUF les ribozymes)

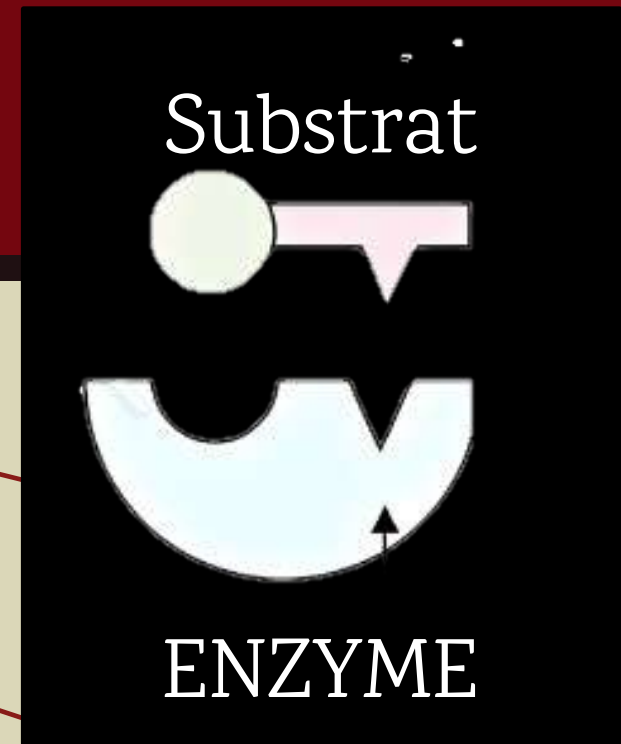
= catalyseur biologique

La structure des enzymes

+++

La structure des enzymes

- ✓ Les enzymes sont toutes des **protéines** (ATTENTION **SAUF LES RIBOZYMES** +++)
- ✓ Elles sont présentes dans **TOUS** les compartiments cellulaires
- ✓ Leur synthèse est déterminée **génétiquement**
- ✓ Leur activité de catalyse est assurée par le **SITE ACTIF (SA)**



Les propriétés des enzymes

+++

Les propriétés des enzymes +++

- ✓ Elles agissent à des **concentrations** très faibles
- ✓ Sont **spécifiques** d'une réaction donnée
- ✓ Agissent comme des **catalyseurs** biologiques
- ✓ Elles **augmentent la vitesse** des réactions chimiques
- ✓ Elles ne modifient **PAS** le résultat de la réaction chimique
- ✓ Leur **structure** se trouve **inchangée** à la fin de la réaction
- ✓ Leur synthèse est **génétique**
- ✓ Nom : type de la réaction catalyse + suffixe « **ase** »



GROS Récapitulatif

La structure et les propriétés des enzymes +++

- ✓ Elles sont présentes dans **TOUS** les compartiments cellulaires
- ✓ Agissent comme des **catalyseurs** biologiques
- ✓ Leur activité de catalyse est assurée par le **SITE ACTIF** (SA)
 - ✓ Sont **spécifiques** d'une réaction donnée
 - ✓ Elles agissent à des **concentrations très faibles**
 - ✓ Elles **augmentent la vitesse** des réactions chimiques

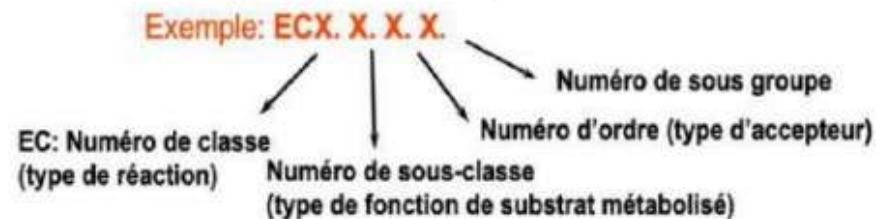
- ✓ Synthèse déterminée **génétiquement**
 - ✓ Les enzymes sont toutes des **protéines**
(ATTENTION **SAUF** LES **RIBOZYMES** +++)
-

- ✓ Elles ne **modifient PAS le résultat** de la réaction chimique
- ✓ Leur **structure se trouve inchangée** à la fin de la réaction
- ✓ Nom : type de la réaction catalysée + suffixe « **ase** »

D) Classification enzymatique

- Classification de l'union internationale de biochimie (1961)
- Basée sur le type de réaction catalysée
- 6 groupes
- Identification des enzymes par 4 chiffres précédés de EC

- ✓ 1^{er} chiffre : numéro de classe (type de réaction)
- ✓ 2^{ème} chiffre : numéro de sous classe (type de fonction de substrat métabolisé)
- ✓ 3^{ème} chiffre : numéro d'ordre = type d'accepteur
- ✓ 4^{ème} chiffre : numéro de sous-groupe



ATP: glucose phosphotransférase: EC2.7.1.1 (hexokinase)

2: numéro de classe: transférase

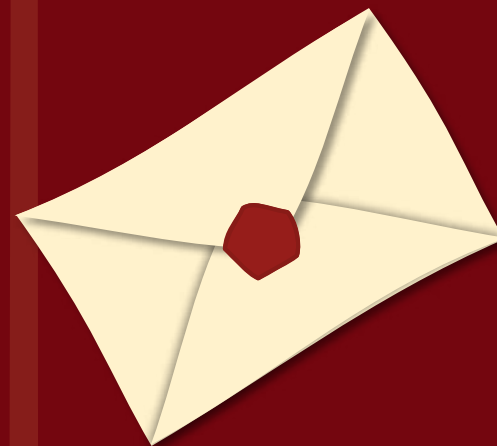
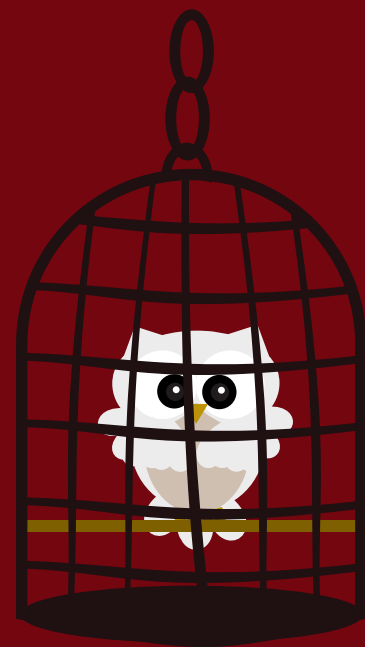
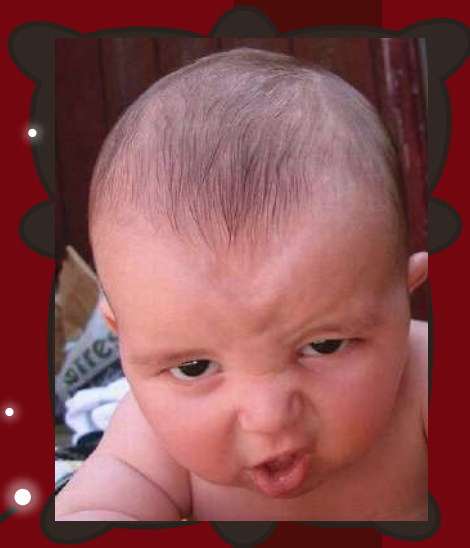
7: sous classe: phosphotransférase

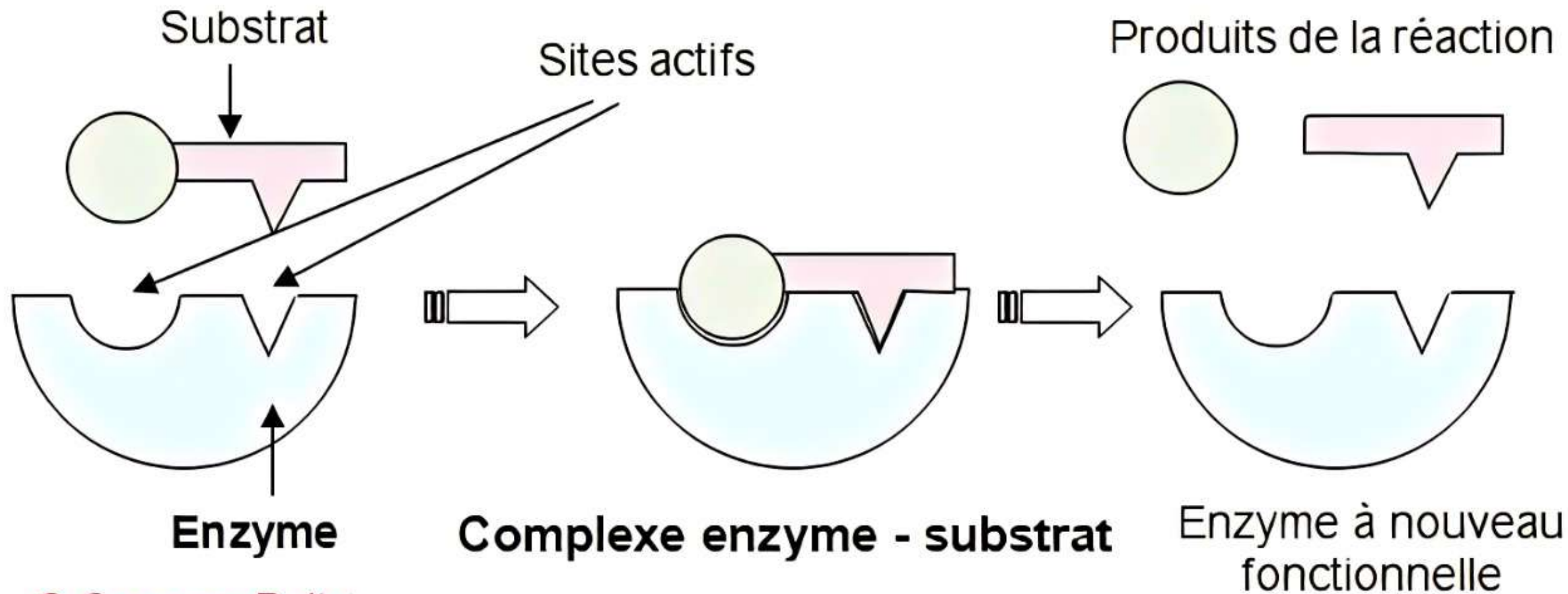
1: ordre: phosphotransférase avec un groupe hydroxyl comme accepteur

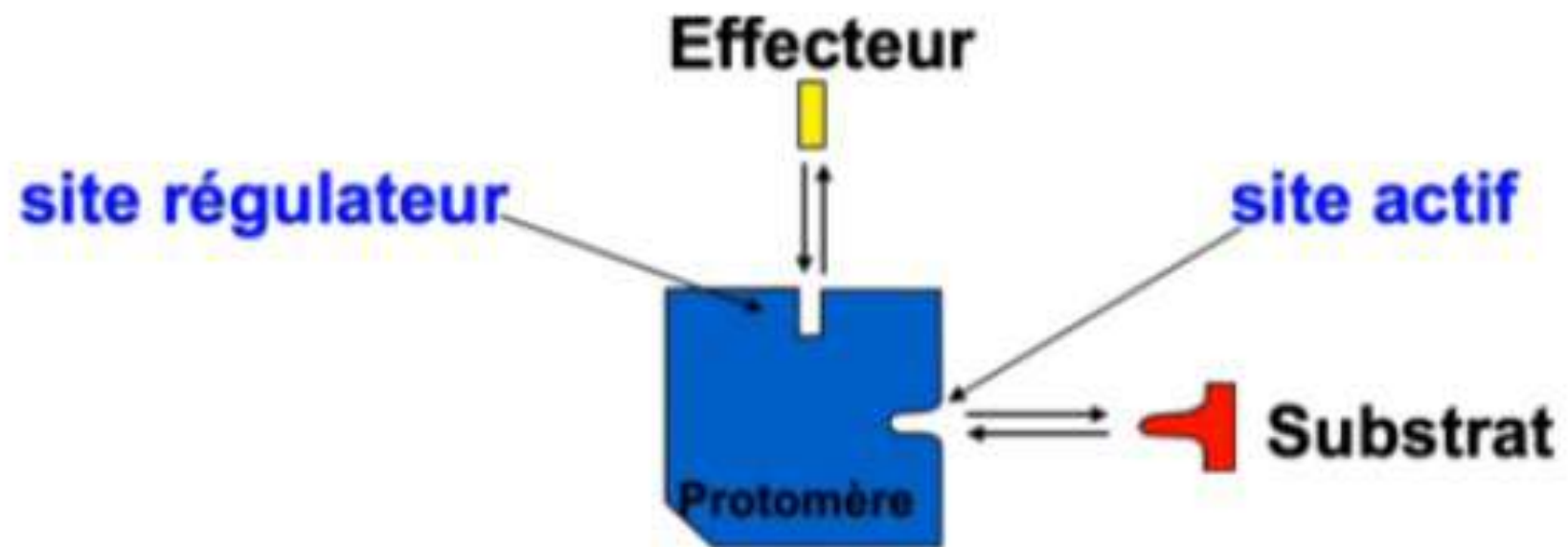
1: D-glucose comme accepteur du groupe phosphate

	Classes	Type de réactions catalysées
1	Oxydo-réductases	Réactions d'oxydoréduction
2	Transférases	Transfert de groupements fonctionnels
3	Hydrolases	Réaction d'hydrolyse
4	Lyases	Addition de groupes sur double liaison ou élimination de groupe pour former une double liaison
5	Isomérases	Transfert de groupes à l'intérieur d'une molécule
6	Ligases	Formation de liaison C-C, C-S, C-O ou C-N Nécessite la fourniture d'énergie (ATP)

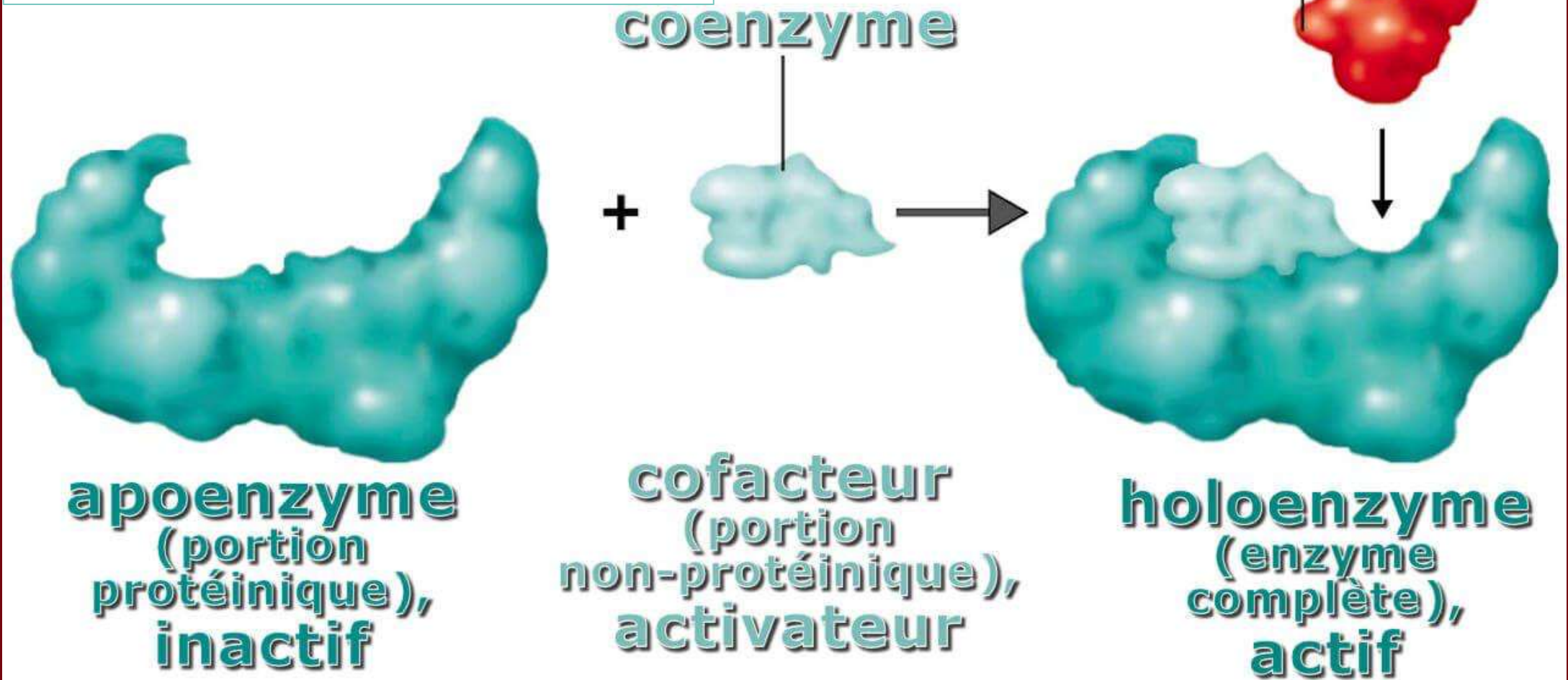
Comment se
passe
une réaction
enzymatique ?







- ⇒ Transport du substrat
- ⇒ Acceptation d'un produit
- ⇒ Maintien de la structure active de l'enzyme (SA)



Propriétés de la Catalyse

Les propriétés de la Catalyse



L'énergie
d'activation

L'état de
transition

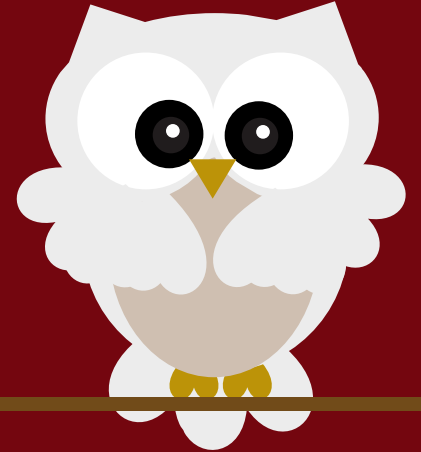
Les règles
de la
catalyse

L'énergie d'activation

C'est la **barrière énergétique** que le substrat doit franchir **pour être transformé** en produit

C'est donc la barrière à franchir pour que la réaction ait lieu +++

Le **but** des enzymes est donc **d'abaisser au maximum cette barrière énergétique** pour pouvoir accélérer une réaction et donc d'y augmenter sa vitesse +++



Les enzymes sont donc des catalyseurs biologiques et permettent d'accélérer une réaction et d'augmenter la vitesse de réaction d'un facteur 10^6 à 10^{17}



Sans catalyseur → **E_a** = 18 Kcal / mole

Platine colloïdal → **E_a** = 12 Kcal / mole

Catalase → **E_a** = 2 Kcal / mole

Les propriétés de la Catalyse



L'énergie
d'activation

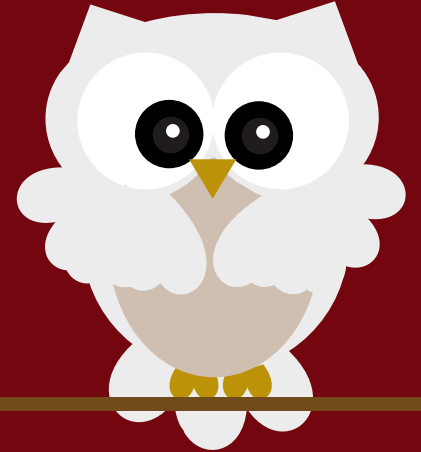
L'état de
transition

Les règles
de la
catalyse

L'état de transition

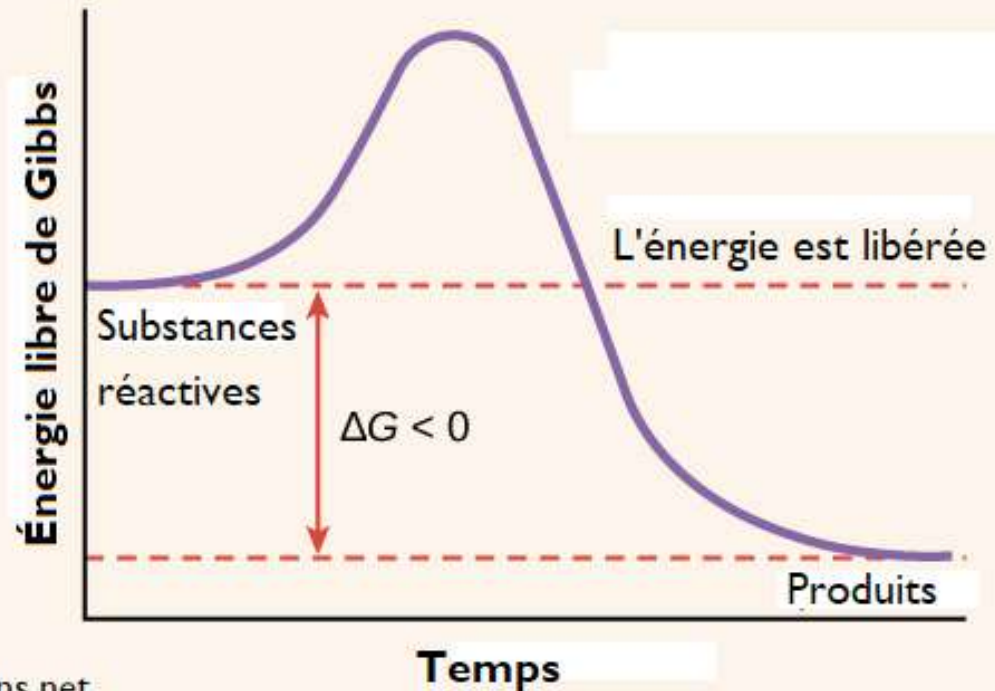
C'est **l'état énergétique** maximal dans lesquels les substrats A et B subissent des modifications structurelles **pour être transformés en C et D**

C'est le **plateau énergétique** obtenu lorsque qu'on a obtenu le maximum de l'énergie d'activation où la transition substrat → produit se déclenche



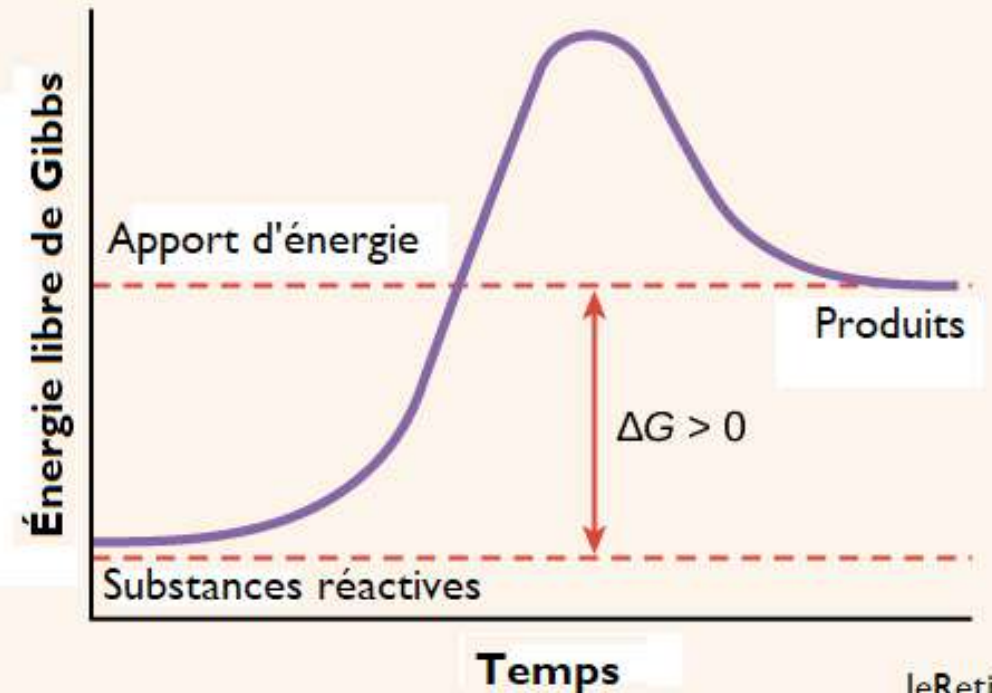
Réaction exergonique: $\Delta G < 0$

Réaction spontanée

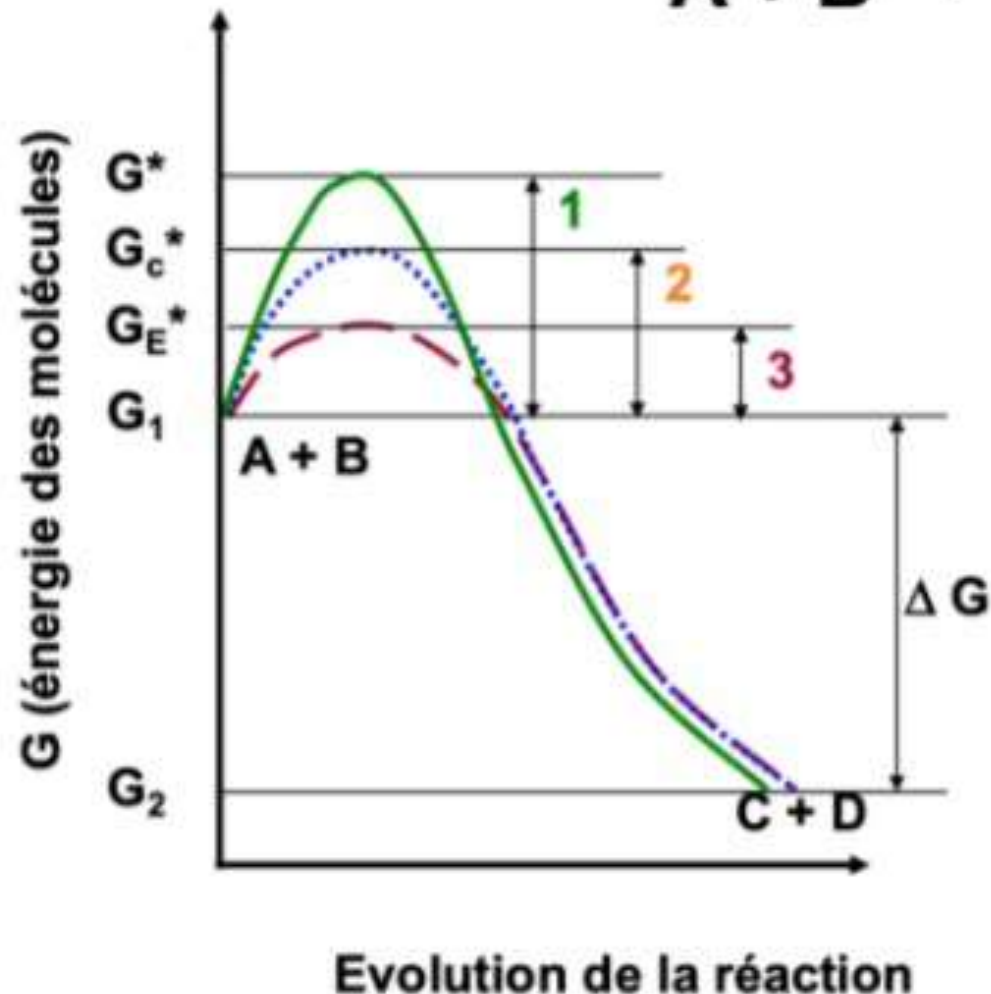


Réaction endergonique: $\Delta G > 0$

Réaction non spontanée



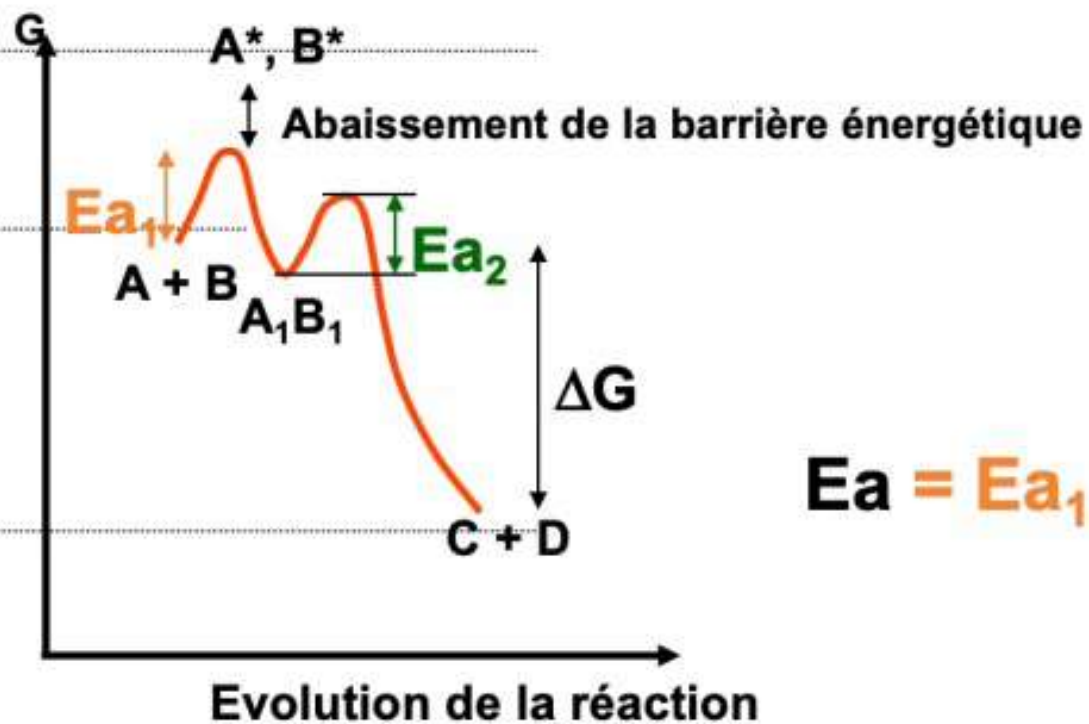
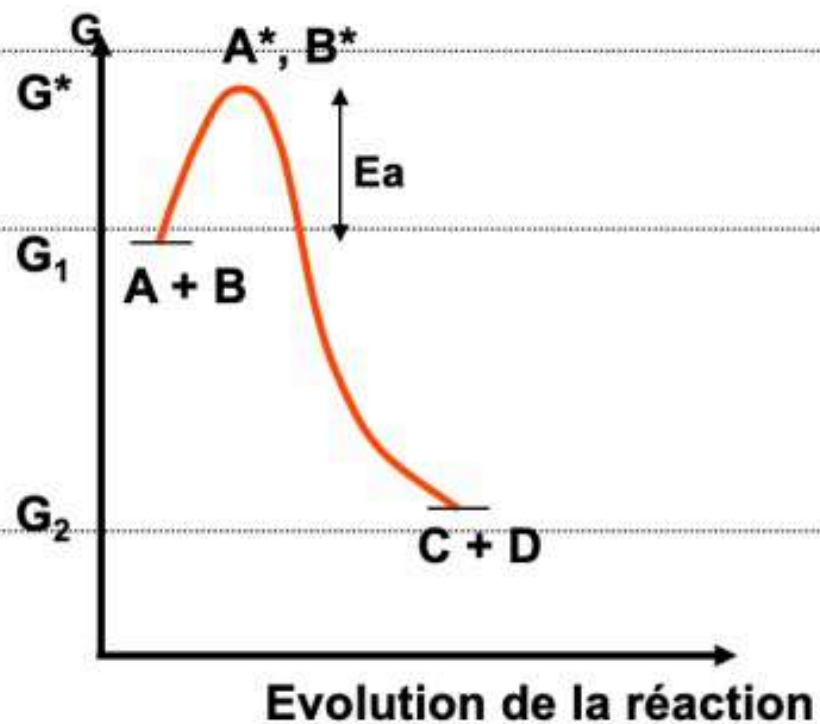
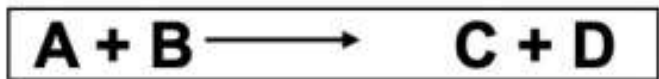
La catalyse



1 : Énergie minimale requise des molécules pour une **réaction non catalysée**

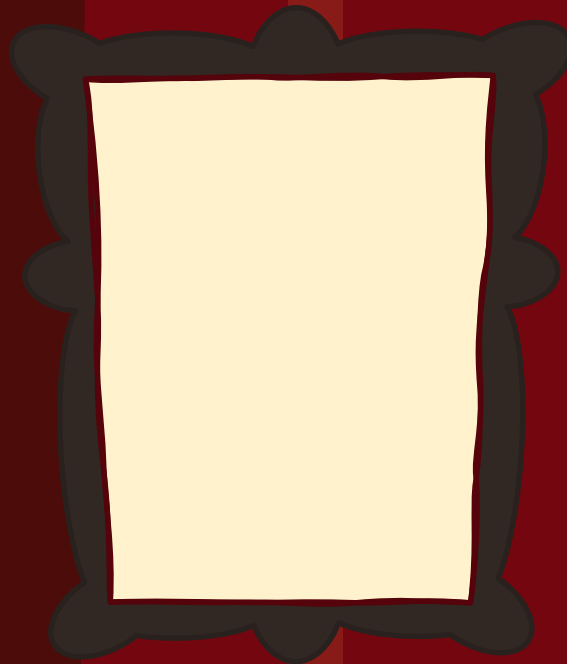
2 : Énergie minimale requise des molécules pour une réaction catalysée par un **catalyseur**

3 : Énergie minimale requise des molécules pour une réaction catalysée par **une Enzyme**



$$E_a = E_{a_1} + E_{a_2}$$

Les propriétés de la Catalyse

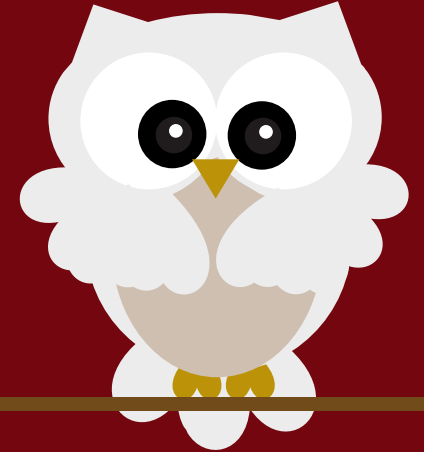


L'état de
transition

Les règles
de la
catalyse

Les règles de la catalyse

- ✓ Agit toujours à de très faibles concentrations et sert un grand nombre de fois
 - ✓ Se retrouve toujours INTACTE en fin de réaction
 - ✓ Augmente la vitesse de réaction en abaissant l'énergie d'activation
-
- ✓ Un catalyseur ne provoque JAMAIS de réaction chimique +++++
 - ✓ Ne rend jamais possible une réaction thermodynamiquement impossible (kikou la bioénerg : Si $\Delta G > 0 \rightarrow$ la réaction ne se fait pas)
 - ✓ Dans le cas d'une réaction réversible, il ne modifie PAS l'équilibre mais permet à celui-ci d'être atteint plus rapidement ++



Qu'est-ce qu'on a vu ?

Des généralités
comme
la structure et
les propriétés
des enzymes
avec le gros
récap

Les différents
acteurs d'une
réaction
enzymatique

Les propriétés de
la catalyse avec
l'énergie
d'activation,
l'état de
transition et
quelques règles
de la catalyse

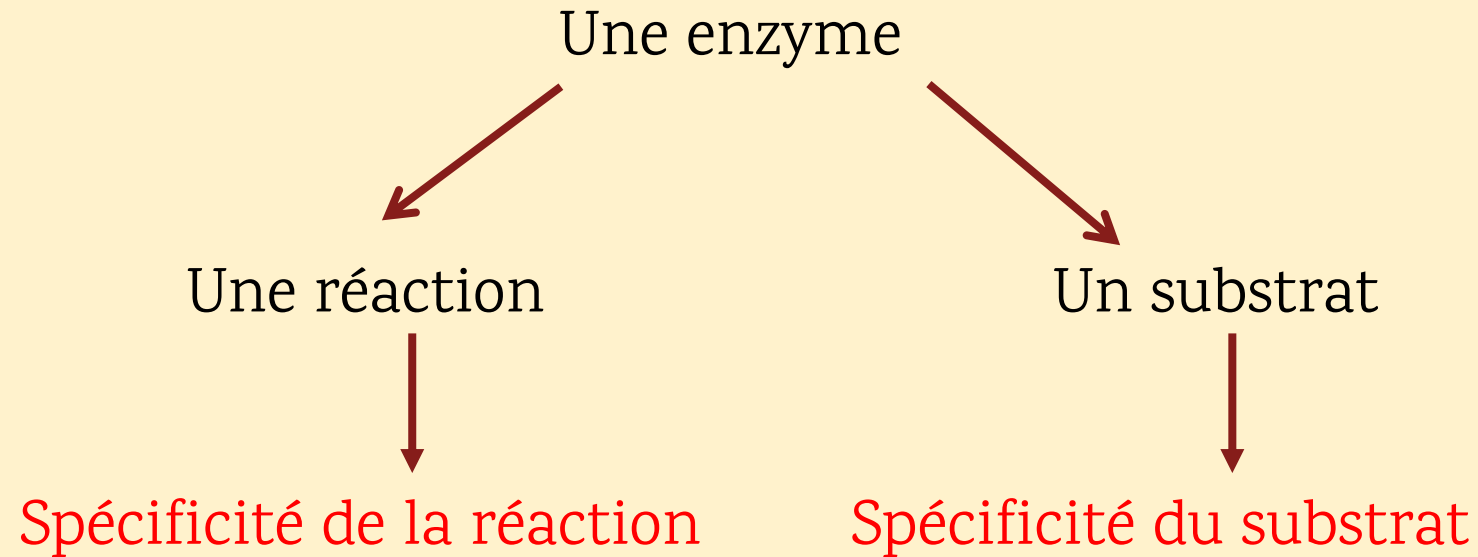
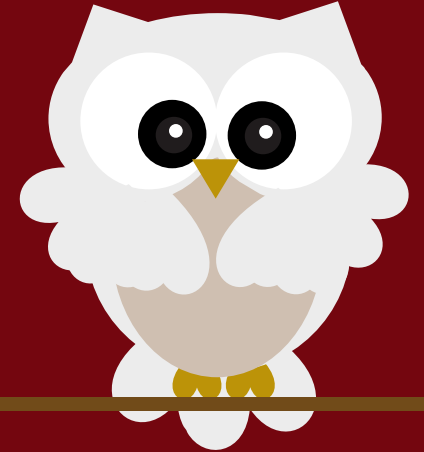
Ce que l'on va voir

La spécificité
des enzymes

Structure
protéique
des
enzymes
et Site
Actif

Les
cofacteurs
et les
coenzymes

La spécificité des enzymes



ATTENTION !

Une enzyme n'intervient pas que sur la molécule unique mais sur une classe de substrats

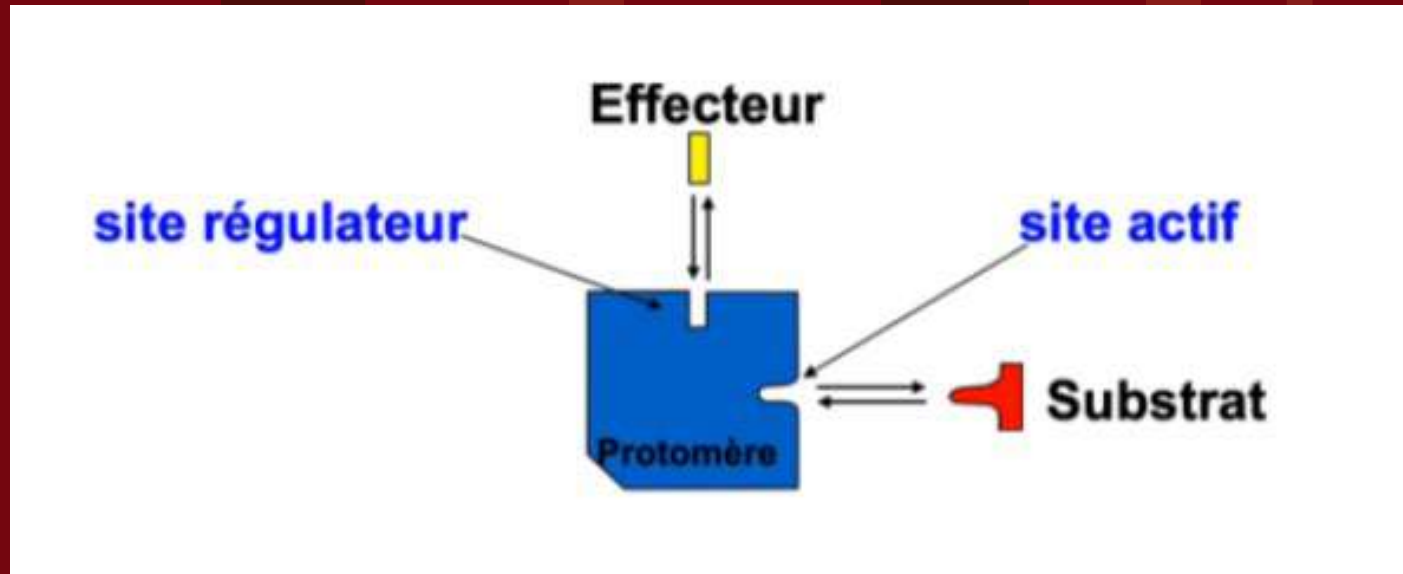
Ce que l'on va voir

La spécificité
des enzymes

Structure
protéique
des
enzymes
et Site
Actif

Les
cofacteurs
et les
coenzymes

Structure protéique des enzymes et Site Actif



LE SITE ACTIF =
site de reconnaissance du (ou des) substrat +
site catalytique (transformation du substrat).

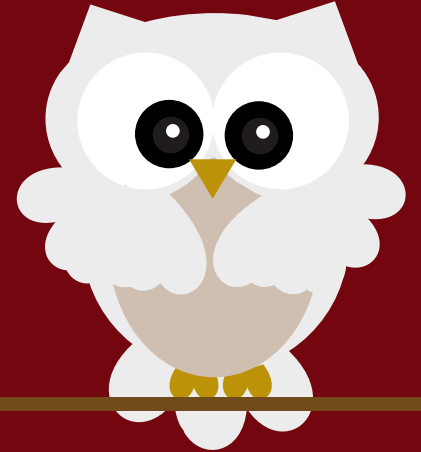
Structure protéique des enzymes et Site Actif

AA de Contact	AA Auxiliaire	AA de Conformation	AA Indifférents
<ul style="list-style-type: none">- Interactions directes avec le substrat- Nombre < 10- Pas forcément proches dans la séquence primaire protéique MAIS se retrouvent proches lorsque la protéine assume une conformation tridimensionnelle	<ul style="list-style-type: none">- Pas d'interaction avec le substrat- Proches du site catalytique du SA- Assure la flexibilité = Rôle essentiel	<ul style="list-style-type: none">- N'interviennent pas dans la réaction enzymatique- Stabilisent l'enzyme sous sa forme réactionnelle	<ul style="list-style-type: none">- N'interviennent pas dans la réaction enzymatique- Localisés aux extrémités N et C de la protéine

Structure protéique des enzymes et Site Actif

Le Site ACTIF :

- Est une **crevasse** à la périphérie de l'enzyme formée par des Aa de contact
- Occupe une **faible** part du volume total d'une enzyme donc seul un nombre restreints de résidus d'Aa sont impliqués dans la formation du SA.
- Constitue un micro-environnement unique => l'association étroite entre SA et substrat implique que **l'eau** y est généralement **exclue** sauf si elle est substrat.
- Les liaisons qui interviennent lors de la formation du complexe enzyme-substrat sont les mêmes que celles qui sont responsables de la structure spatiale des protéines. Elles sont de faible niveau énergétique.

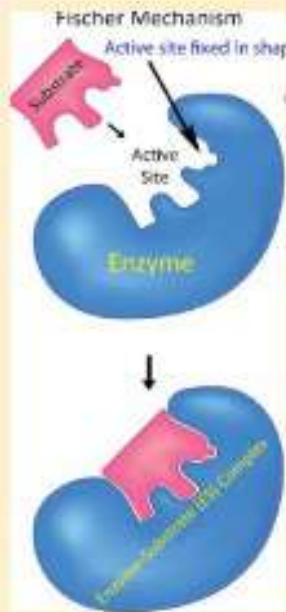


Le SA doit avoir 2 fonctions :
RECONNAITRE + **TRANSFORMER** ++++
avec un **site de fixation** et un **site catalytique**

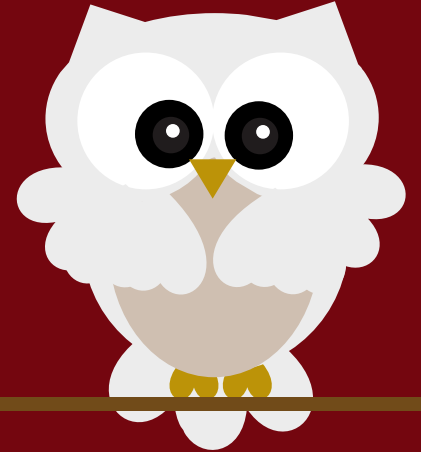
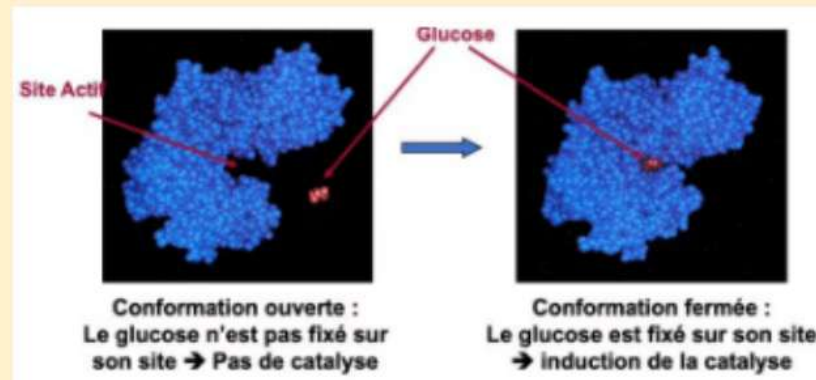
Structure protéique des enzymes et Site Actif

2 modèles modélisant ce lien substrat – enzyme:

Modèle de Fischer



Modèle de Koshland



Ce que l'on va voir

La spécificité
des enzymes

Structure
protéique
des
enzymes
et Site
Actif

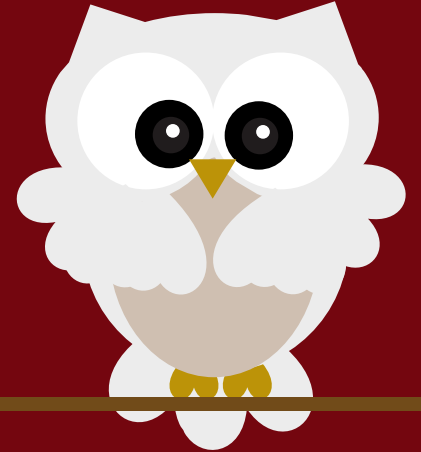
Les
cofacteurs
et les
coenzymes

Les cofacteurs et les coenzymes

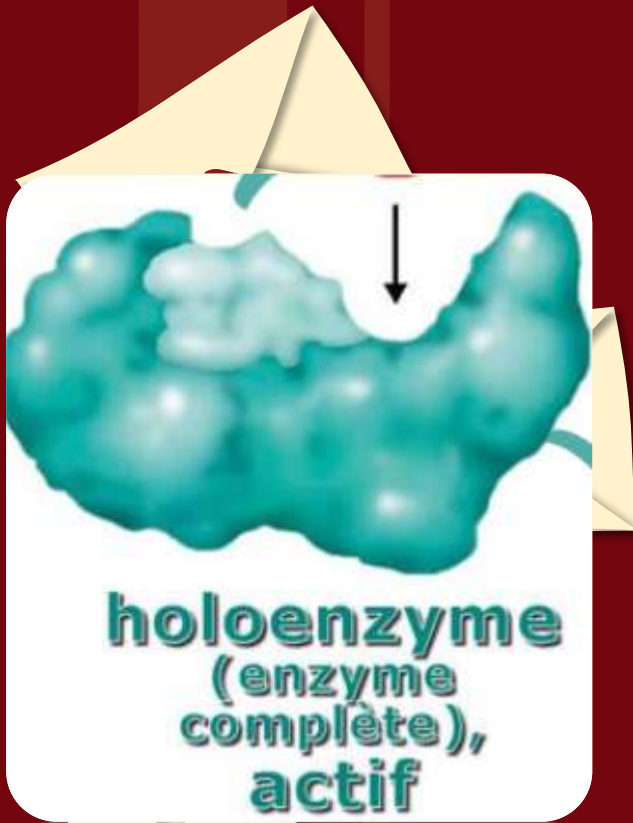
De nombreuses enzymes ont exclusivement une structure protéique et certaines enzymes ne sont actives qu'en présence d'un cofacteur

➔ Holoenzyme (partie protéique + coenzyme)

Holoenzyme sans cofacteur = APOENZYME



Les cofacteurs et les coenzymes



- Cofacteur(s) = Partie non protéique
- Essentiellement des ions (cations inorganiques) : Cu^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} ...
- On trouve aussi des molécules biologiques synthétisés à partir d'intermédiaires métaboliques (donc molécules organiques) appelés : COENZYME NAD^{+} , NADP^{+} , FAD, TPP..
- 3 rôles (oui oui tu les connais, ils sont au TAP les cofacteurs)

Les cofacteurs sont au TAP !



Transport
du
substrat

Acceptation
du produit

Participation
à la structure
de la forme
active de l'
enzyme

Les coenzymes

"Tu Restes à Nice ? Ah ... (t'as un) Problème ?"

Vitamine	Nom	Coenzyme	Rôles
Vitamine B3	Nicotinamide	NAD / NADP	Métabolisme glucidique / lipidique / protidique
Vitamine B5	Acide pantothénique	Coenzyme A	Métabolisme des acides gras
Vitamine B6	Pyridoxine	Pyridoxal phosphate	Métabolisme des acides aminés
Vitamine B2	Riboflavine	FMN / FAD	Métabolisme énergétique Métabolisme des acides aminés
Vitamine B1	Thiamine	Thiamine pyrophosphate	Assimilation des glucides Métabolisme des acides aminés
Vitamine H	Biotine	Biotine	Métabolisme des acides aminés Métabolisme des corps gras Néoglucogenèse

C'est Plié
C'est LiSsé

COENZYMES CPL	COENZYMES CLS
COENZYMES Catalytiques / Prosthétiques/ Liés	COENZYMES Co-substrat/ Libre / Stoechiométriques
Liaisons fortes (type covalente), irréversible	Coenzyme – Apoenzyme = liaisons faibles, électrostatiques, renouvelées
Concentration en conzyme est voisine de la concentration de l'enzyme (petite)	Concentration coenzyme même ordre de grandeur que celle du substrat
/	Energie mise en jeu enzyme-coenzyme même ordre qu'enzyme- substrat
FAD, Pyridoxalphosphate	NAD+, NADP+, CoA-SH
Activateur	Transporteur
Ne se dissocie jamais de l'apoenzyme (maturation post-traductionnelle)	Se dissocie de l'apoenzyme à chaque réaction catalysée
Sont impliqués dans le Site catalytique des Enzymes	/

Finito
Pipo!