Thoraxel

Enzymologie 1

Le Plan

I. Notions fondamentales en enzymologie

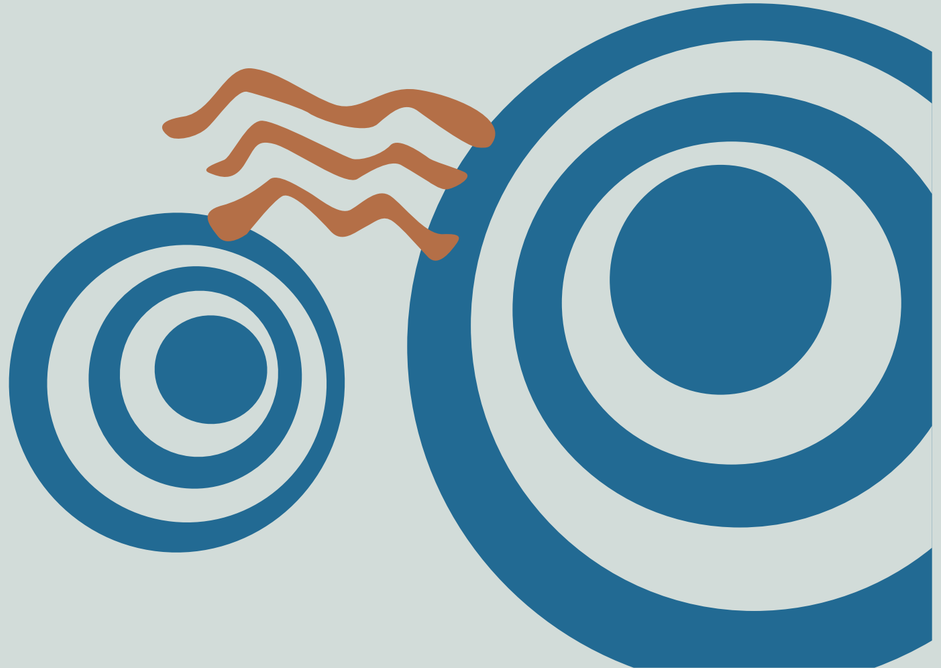
1.1. Généralités et définitions
1.2. Classification eznymatique
1.3. Propriétés des enzymes
1.4. Spécificités des enzymes

II. Structure protéique des enzymes

2.1. Complexe enzyme-substrat (E-S)
2.2. Caractéristiques du site actif (SA)
2.3. Les deux modèles

III. Cofacteurs et coenzymes

3.1. Les coenzymes
3.2. Classification des coenzymes



1.1. Généralités et définitions

- Enzymologie = étude des propriétés structurales et fonctionnelles des enzymes, et de la vitesse des réactions catalysées (=la cinétique enzymatique).

- Qu'est qu'une enzyme ?
  Une enzyme c'est une macromolécule, une protéine spéciale qui agit comme un outil dans les cellules en accélérant certaines réactions chimiques.

L'enzymologie c'est l'étude de ces enzymes :

- au niveau de sa structure → comment elle est faite
- de sa fonction → comment elle fonctionne
- au niveau de sa cinétique enzymatique → à quelle vitesse elle travaille.

De plus elles ont des caractéristiques propres :

- ce sont des protéines sauf les ribozymes
- leur synthèse est déterminé génétiquement
- elles sont présentes dans tous les compartiments cellulaires
- elles agissent à des concentrations très faibles
- elles augmentent la vitesse des réactions chimiques
- ne modifient pas le résultat de la réaction chimique
- leurs structures restent inchangées à la fin de la réaction
- toute enzyme a son site actif (SA)

Les enzymes ont une importance physiologique majeure. Elles sont impliquées dans :

- les transformations métaboliques
- participent à nos systèmes de régulations

Sans nos enzymes les réactions dans nos cellules ne pourraient pas avoir lieu → elles sont indispensables à notre survie.

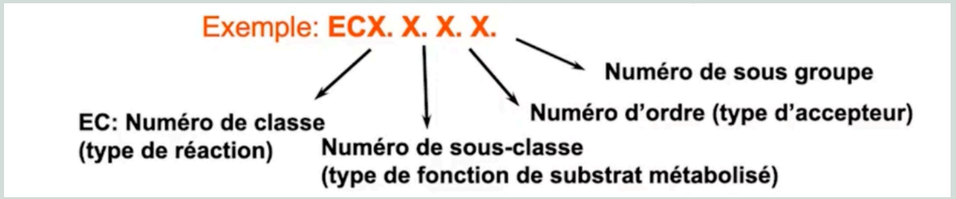
De par son caractère irremplaçable l'altération des enzymes aboutie à des pathologies qui se traduisent par une diminution de leur activité ou d'une activité trop importante.
Les enzymes nous intéressent énormément en médecine elles sont la ciblent de nombreux médicaments.

Pour différencier ces enzymes on va leur donner des noms. C'est la réaction que l'enzyme catalyse + le suffixe -ase. Par exemple :

- la réductase qui ..... réduit
- la phosphatase qui ..... enlève un phosphate

1.2. Classifications enzymatique

La classification des enzymes est basée sur le type de réaction catalysées répartie en 6 groupes . On les identifie par EC suivie de 4 chiffres.



Et voici les 6 groupes/classes, les sous classes permettent de préciser la réaction, les groupes moléculaires qui interviennent :

	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)

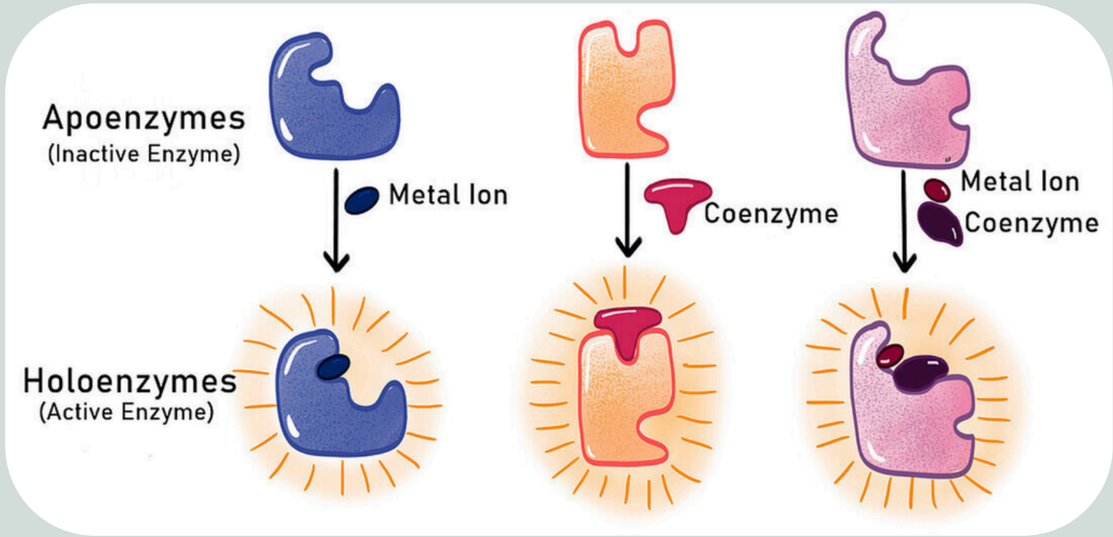
1.3. Propriétés des enzymes

Pour que la réaction se passe bien, nous avons besoin de 4 intervenants principaux :

- le substrat = molécule qui va être transformer
- le produit = molécule que l'on obtient
- le ligand = corps chimique (=molécule/atome) qui a une liaison spécifique avec une protéine.
- les cofacteurs = composés chimiques nécessaires au déroulement des réactions enzymatiques. En transportant un substrat/une partie du substrat ou d'accepter un produit/une partie du produit voir de participer à la structure active de l'enzyme.
- les coenzymes = cofacteurs complexes indispensables au déroulement de certaines réactions.

Il existe deux types d'enzymes :

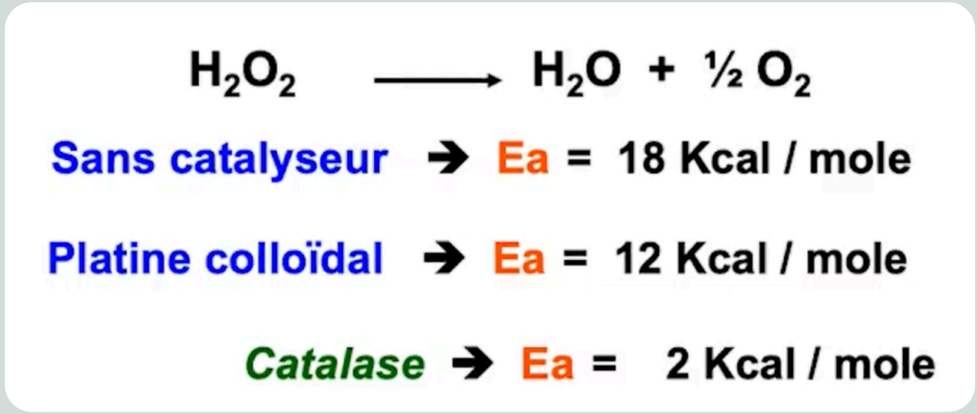
- Apoenzyme = partie protéique de l'enzyme → sans son cofacteur et/ou coenzyme. L'enzyme est inactive.
- Holoenzyme = l'enzyme liée à son cofacteur et/ou coenzyme. L'enzyme est active.



Tut'info : une enzyme a besoin d'un cofacteur et/ou d'un coenzyme pour fonctionner

L'énergie d'activation (=Ea) = barrière énergétique que le substrat doit franchir pour être transformé en produit. Par exemple :

On part d'une molécule d'eau oxygénée que l'on réduit en eau et en oxygène :
À l'état basale : énergie d'activation = 18 Kcal/mole. Avec un catalyseur chimique l'Ea = 12 Kcal/mole. enfin avec l'enzyme spécifique l'Ea = 2 Kcal/mole.

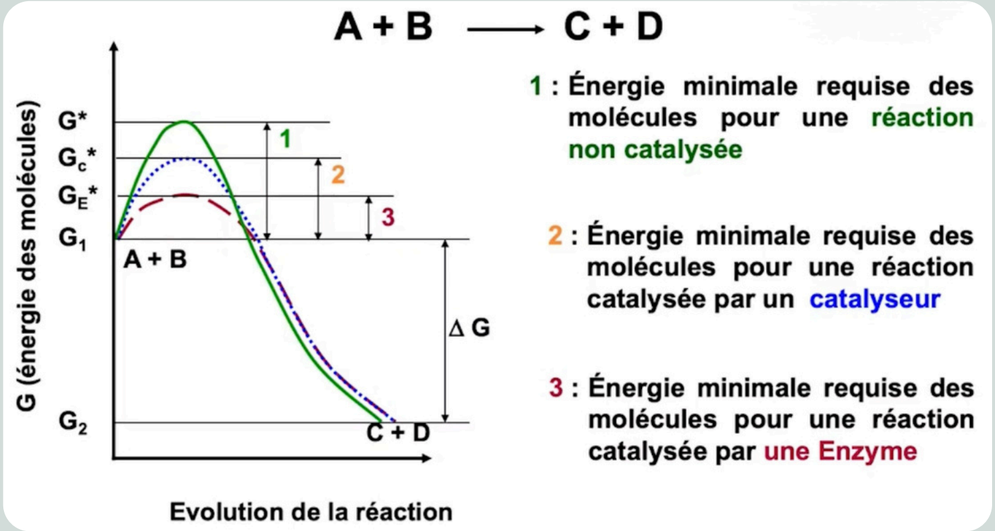


L'enzyme diminue énormément l'Ea, on peut transformer plus de H2O2 en H2O + O2.
Une molécule de catalase = réduction de $5x10^6$ de H2O2/min.

Les enzymes diminuent l'Ea → elle est atteinte plus vite. Elles sont donc des catalyseurs biologiques et permettent d'accélérer la vitesse de réaction d'un facteur 10^6 à 10^{17}

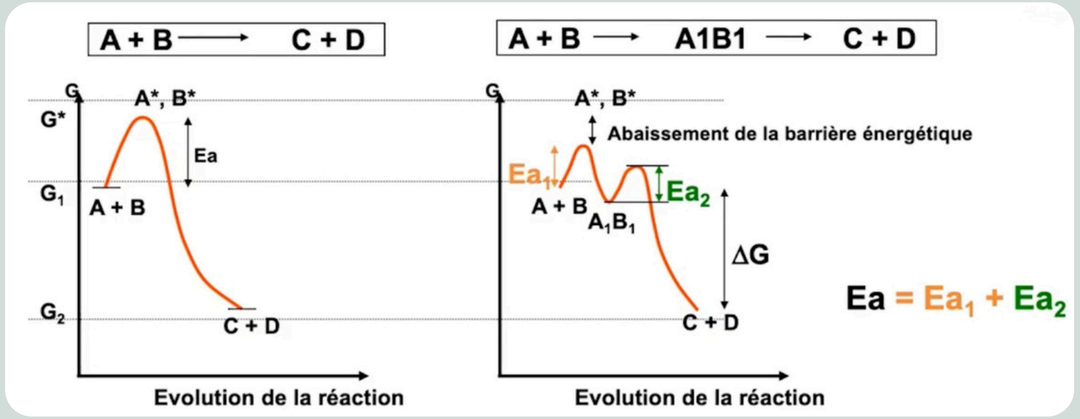
La catalyse : L'état de transition = état où les substrats subissent des modifications structurelles pour être transformés en produits.

En exemple : On considère une réaction où A + B → C + D et on représente l'énergie des molécules en fonction de la réaction.
D'un point de vue thermodynamique
la réaction est possible → les produits C et D ont une énergie inférieure aux substrats A et B



Pour réaliser cette réaction : nos substrats A et B doivent atteindre cet état de transition, subir des modifications et se transformer en produits. Pour cela il faut un apport d'énergie → l'énergie d'activation est diminuée par la présence des enzymes spécifique à la réaction, cette baisse est dû à la diminution de l'énergie de l'état de transition → on transforme plus de substrats en produits

Remarque : Cette baisse de l'Ea peut être directe ou se faire par la formation d'un ou plusieurs intermédiaires de réaction chacun ayant une Ea plus basse. L'Ea totale de la réaction sera la somme des Ea des différentes réactions intermédiaires.



Règle de la catalyse :

- un catalyseur ne provoque jamais de réaction chimique
- un catalyseur ne rend jamais possible une réaction thermodynamiquement impossible → $\Delta G > 0$
- un catalyseur agit sur la vitesse de réaction en augmentant cette dernière
- un catalyseur se retrouve toujours intacte à la fin de la réaction et peu donc servir de nombreuses fois
- un catalyseur agit en faible concentration
- pour une réaction réversible le catalyseur ne change pas l'équilibre

1.4. Spécificités des enzymes

Pour les enzymes on a deux types de spécificités, vis à vis :

- De la réaction → à partir d'une molécule donnée, un seul type de réaction est possible grâce au fonctionnement de l'enzyme qui va dépendre de l'environnement réactionnel.

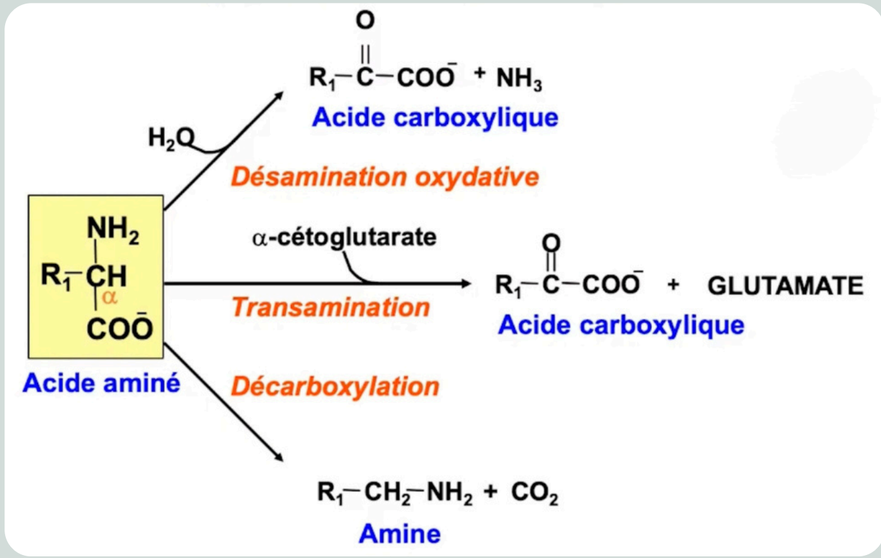
- Du substrat → l'enzyme et le substrat doivent avoir la bonne liaison au bon endroit = relation structure/activité. Le substrat doit remplir deux conditions :
  → est-t-il accessible pour l'enzyme ? conformation
  → est-t-il capable de faire la réaction chimique ? composition chimique

Souvent une enzyme n'agit pas sur un seul substrat mais sur une classe de substrat.

Spécificité de réaction :

Un substrat donné peut subir différents types de réactions pour générer différents produits, chacune de ces réactions est catalysées par des enzymes différentes bien que le substrat soit le même.

Par exemple un AA peut subir :



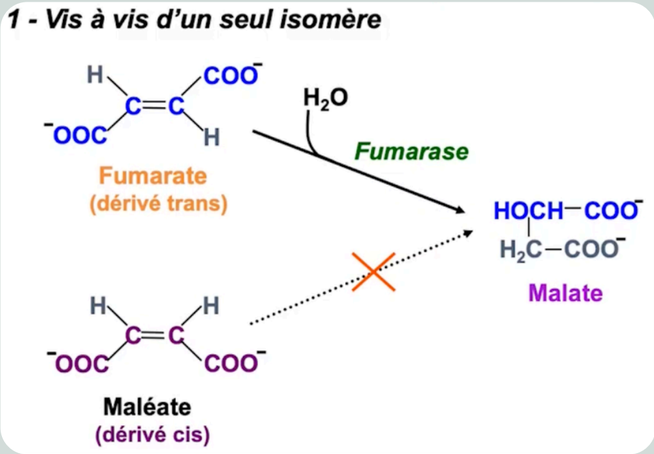
- Désamination oxydative → générer un acide carboxylique et du NH3
  → catalysées par des désaminases.

- Transamination → générer de l'Acide carboxylique et du glutamateréalisée → les transaminases

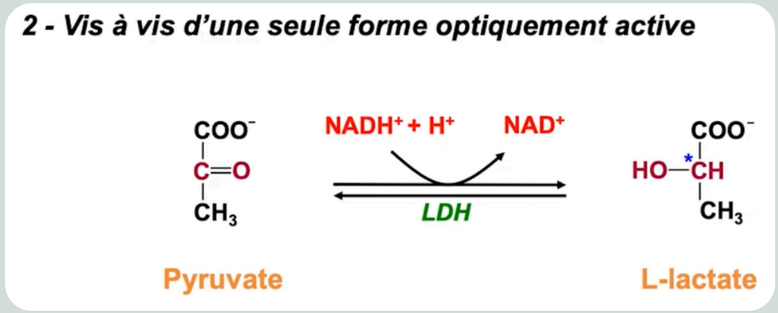
- Décarboxylation → générer de l'Amine et du CO2 → par des décarboxylases

Spécificité de substrat :

Stéréospécifité : spécifique d'un seul isomère. Des enzymes différencient 2 isomères optiques et agissent sur un des deux.
Exemple : La fumarase : Le fumarate et le maléate ont tous les deux la même structure mais pas la même conformation → la fumarase va agir sur le dérivé trans et pas sur le dérivé cis



Une enzyme peut être spécifique de forme optiquement active.
Exemple : La lactate Déshydrogénase : Le lactate existe sous 2 formes L et D → on retrouve des LDH qui produisent du L-Lactate et du D-Lactate.



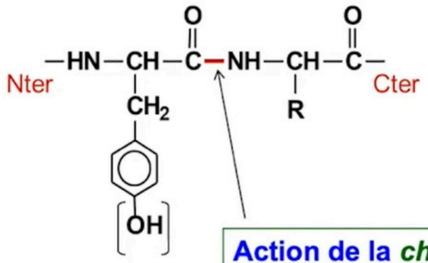
L'enzyme peut être spécifique d'un type de liaison ou d'un type de groupement, il n'y a pas uniquement la liaison qui est reconnue mais aussi son environnement.

Exemple : les protéases qui hydrolysent les liaisons peptidiques. On distingue les exopeptidases et les endopeptidase.

Parmi les endopeptidases on a la chymotrypsine → l'enzyme coupe plus facilement les liaisons peptidique à droite d'un AA aromatique → Il y a reconnaissance du type de liaison et de l'environnement.

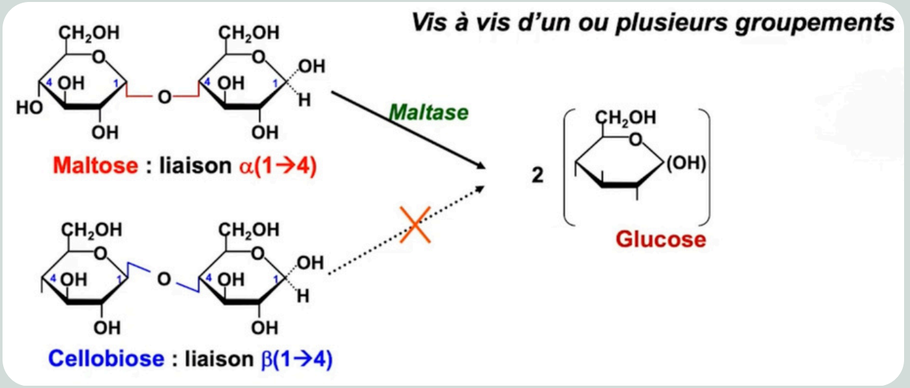
Spécificité où seule une liaison, placée dans un environnement défini, est impliquée

Ce n'est pas la liaison seule qui est reconnue mais aussi l'environnement de la liaison

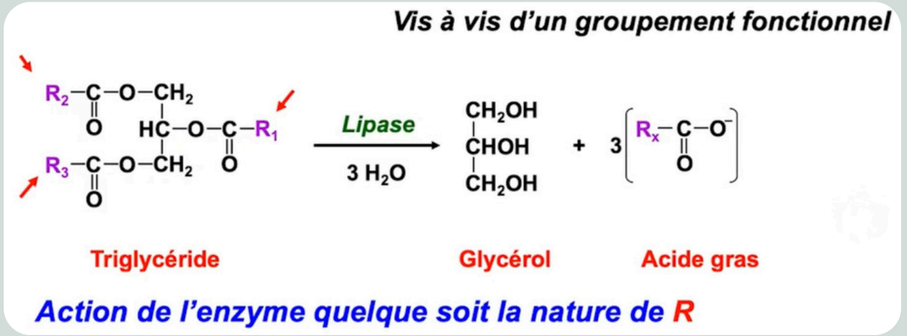


Action de la *chymotrypsine* sur la liaison peptidique à droite des acides aminés (Phé et Tyr) de la série L

Une enzyme peut avoir une spécificité à un ou plusieurs groupements.
Exemple : la maltase : elle est capable de rompre une liaison entre les molécules de glucose de type alpha :
α (1 → 4) dans le maltose. Si cette liaison entre les 2 glucoses est de type bêta → la réaction ne peut pas être catalysée.



Enfin, certaines enzymes ont une spécificité moins stricte ou plus large des groupements fonctionnels de substrat.
Exemple : les lipases qui vont agir indépendamment de la nature de l'AG qui compose le TG.



QCM

A) Les enzymes sont toutes des protéines
B) Elles ont une importance physiologique mineure
C) Il existe cinq classes d'enzymes
D) Parmi la spécificité de substrat on en note quatre : d'un seul isomère, de liaison, de groupement, et d'une forme optiquement active
E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Les Réponses

A) Faux : Pas toutes, les ribozymes sont des ARN
B) Faux : Importance physiologique majeure
C) Faux : Il en existe six
D) Faux : Il manque celle moins stricte, c'est-à-dire spécifique à une catégorie de substrat
E) Vrai

2. Strcuture protéique des enzymes

La spécificité d'une réaction enzymatique dépend du degré de complémentarité entre l'enzyme et le substrat; elle est déterminée par le site actif.

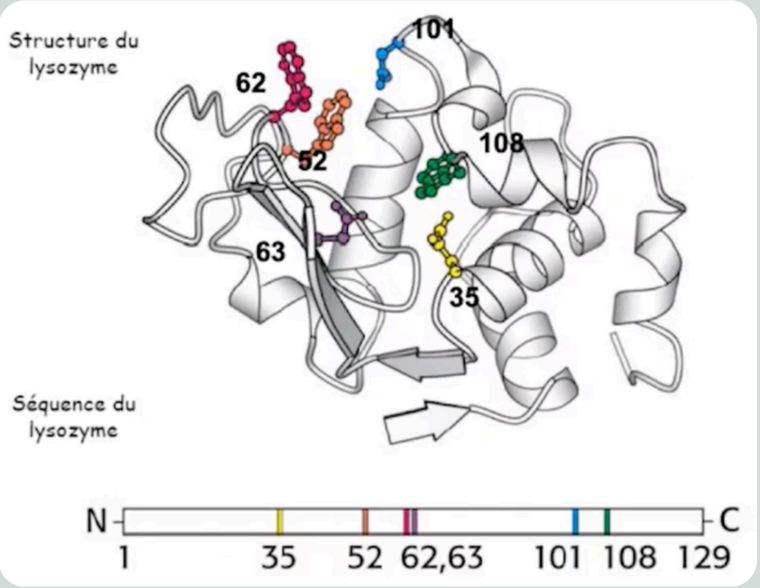
Le site actif = partie de la protéine enzymatique capable de reconnaître et de transformer le substrat, composé d'un ou plusieurs sites de reconnaissances qui fixent le substrat à l'enzyme et d'un site catalytique qui permet la transformation du substrat en produit.

Nos enzymes sont faites d'acides aminés, elles sont composées de 4 principaux types d'acides aminés :
- indifférents = pas d'impact dans la réaction enzymatique + sont aux extrémités de la protéine / - de conformation = pas d'impact dans la réacition enzymatique + stabilisent l'enzyme dans sa forme active / - auxiliaires = proche du SA + assurent la fléxibilité / - de contact = en interaction direct avec le substrat + en petit nombre + pas forcément proche dans la séquence primaire

2.1. Complexe enzyme-substrat (E-S)

La formation du complexe E-S est caractérisée par une stéréospécificité.
La molécule de substrat doit avoir plusieurs groupements fonctionnels dans une configuration spatiale bien définie pour interagir de façon optimale avec les groupements fonctionnels correspondants au niveau du site actif de l'enzyme.

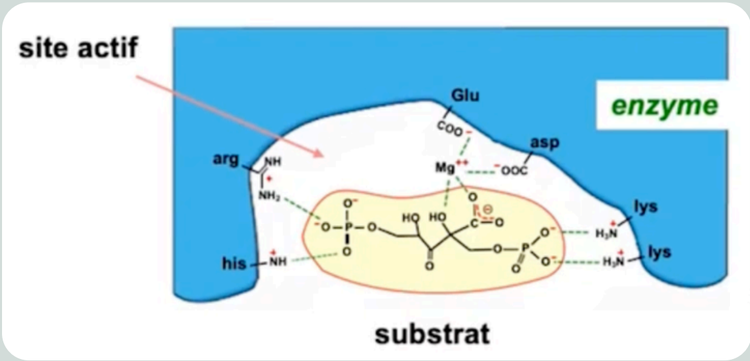
Les groupements de l'enzyme ne sont pas proches dans la structure primaire de l'enzyme mais le sont dans la structure tridimensionnelle.
En effet, ce sont les repliements de la chaîne protéique de l'enzyme qui mènent aux rapprochements des AA les uns des autres pour former le site actif.



2.2. Caractéristiques du site actif (SA)

Le site actif :

→ Physiquement = une crevasse à la périphérie de l'enzyme.
→ Composition = groupements des chaînes latérales des AA de contact.
→ Taille = faible part du volume total d'une enzyme → peu d'AA sont impliqués dans la formation du SA. C'est un micro- environnement unique.
→ L'eau est généralement exclue du SA sauf si elle est le substrat.



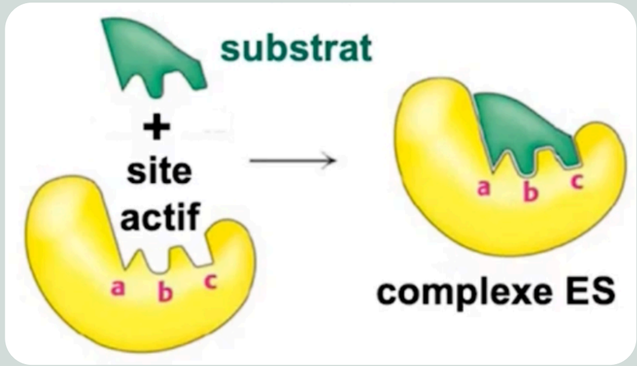
Acides Aminés et site actif :

Les liaisons du SA sont de faible niveau énergétique. L'association du site actif et du substrat est donc très spécifique → l'arrangement des atomes dans le SA est très important. Cette association impose au substrat une forme adaptée pour s'intégrer au SA

2.3. Les deux modéles

1- Le modèle de Fischer : le premier modèle du complexe E-S = le modèle clef-serrure. Il est basé sur l'hypothèse qu'il existe une complémentarité parfaite entre le substrat et le SA. Sauf qu'il présente des limites : c'est un modèle statique, la complémentarité E-S est préexistante → ni l'enzyme ni le substrat ne changent de forme pour créer le complexe. Ça confère une rigidité à l'enzyme et ne permet pas d'expliquer certaines observations :

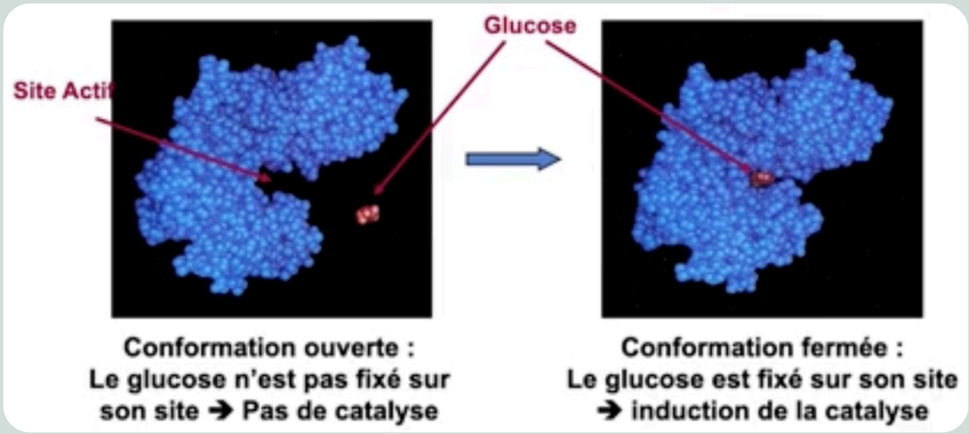
→ des molécules mieux adaptées au SA ne sont pas catalysées.
→ ce modèle n'explique pas le mécanisme de fixation ordonnée : le substrat B ne peut se fixer que si le substrat A est déjà là. Or B devrait entrer tout seul puisque la forme de l'enzyme est censé déjà être la "bonne".



Pour ces raisons le modèle de Fischer a été par la suite abandonné

2- Le modèle de Koshland/Ajustement induit : ce modèle suggère que le SA de l'enzyme doit être complémentaire au substrat dans son état de transition. Selon lui, le substrat induit un changement conformationnel du SA. Ce modèle est basé sur l'hypothèse que la structure de l'enzyme se déforme pour s'adapter à celle du substrat.
Une partie de l'énergie d'interaction entre l'enzyme et son substrat est utilisée pour permettre cette déformation qui contribuera à mettre l'enzyme dans une conformation active → c'est un modèle dynamique.

Par exemple :
L'hexokinase catalyse la réaction :
Glucose + ATP —> G6P + ADP
La fixation du glucose engendre des modifications conformationnelles de l'enzyme nécessaires à la catalyse.



Lorsque le glucose n'est pas fixé, l'hexokinase est ouverte, il n'y a pas de catalyse.
Mais lorsque le glucose est fixé l'hexokinase se ferme et il y a catalyse.

QCM

A) Nos enzymes sont composées d'AA (acide raffinés)
B) Le site actif constitue un volume important de l'enzyme
C) Les liaisons du site actif sont fortes afin d'empêcher le substrat de s'échapper.
D) C'est le premier modèle qui a été abandonné car il ne représentait pas la réalité.
E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Les Réponses

A) Faux : Bien lire la parenthèse

B) Faux : Il est de faible volume

C) Faux : Elles sont faibles

D) Vrai

E) Faux : D est vraie

3. Cofacteurs et coenzymes

Les cofacteurs sont :

- Soit des ions métalliques, par exemple : Mg^{++}, Cu^{++} ...
- Soit des molécules organiques et non protéiques : les co-enzymes.
  Par exemple : NAD^{+}, $NADP^{+}$, FAD, TPP, ...

Leurs rôles :

Les ions interviennent dans la réaction enzymatique soit :

- Pour transporter ou compléter un substrat
- Pour participer à la structure de la forme active de l'enzyme

Les coenzymes peuvent être de différentes natures :

- Co-enzyme stœchiométrique = libre
- Co-enzyme catalytique/prosthétique = associés

3.1. Les coenzymes

Pour fabriquer nos coenzymes, notre corps synthétise des intermédiaires métaboliques. Mais, si la synthèse n'est pas possible la molécule doit être apportée par l'alimentation. Pour la plupart, cela dérive des vitamines !
Voici un tableau récapitulatif des différents types de coenzymes et les molécules desquelles elles dérivent :

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

Les coenzymes interviennent dans la réaction enzymatique pour transporter un intermédiaire réactionnel ou/et accepter un produit de la réaction. Par exemple :
l'enzyme (E) et son coenzyme (CoE) vont récupérer les groupement R de la molécule D, puis la donner à la molécule A. La coenzyme a transporter un intermédiaire réactionnel et elle se retrouve inchangée à la fin de la réaction



3.2. Classer les coenzymes

Selon la nature des liaisons entre l'enzyme et le coenzyme, on distingue 2 types de coenzymes :

- coenzymes catalytiques = prosthétiques = liés : liaison coenzyme-apoenzyme forte/définitive, concentration en coenzyme égale à l'enzyme, le coenzyme ne se dissocie jamais, le coenzyme intervient comme activateur, impliqué dans le site catalytiques.
  Exemple : FAD, Pyridoxalphosphate

- coenzymes stoechiométriques = co-substrats = libres : liaison coenzyme-apoenzyme faible/renouvelée, concentration en coenzyme égale au substrat, le coenzyme se dissocie à chaque réaction, le coenzyme intervient comme transporteur, énergie mise en jeu enzyme-coenzyme est du même ordre qu'enzyme-subtrat.
  Exemple : NAD^+ , $NADP^+$, Coa-SH

QCM

A) Les cofacteurs peuvent être des molécules organiques
B) La plupart de nos coenzymes dérivent des vitamines
C) Il existe deux types de coenzymes : catalytiques et co-substrat
D) Les coenzymes ne changent pas à la fin de la réaction
E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Les Réponses

A) Vrai

B) Vrai

C) Vrai

D) Vrai

E) Faux : Pas de piège

FIN

