



Chapitre 3 : Les enzymes : principes de la catalyse enzymatique

Les enzymes	
Préambule	- Organismes vivants : siège d'un grand nombre (des centaines) de réactions biochimiques très diverses et finement contrôlées (selon les besoins des cellules/organes, selon l'environnement) - En conditions douces (37°, pH neutre, [réactifs] basse) : réactions (très) lentes (même si exergoniques et donc spontanées) - Si elles peuvent avoir lieu rapidement dans les conditions du vivant, c'est car elles sont catalysées par des enzymes (protéines) → vitesse multipliée par millions/milliards de fois
Principe de la catalyse par les enzymes	
Abaissement de l'énergie d'activation	énergie libre d'activation (ΔG_A) = énergie qui doit être absorbée par les réactifs (substrats) pour que les liaisons puissent être modifiées au cours de la réaction (et aboutir à un produit différent). - Les réactifs doivent atteindre un état d'énergie instable dans lequel les liaisons sont + fragiles et + faciles à briser - Même une réaction exergonique requiert l'absorption d'énergie pour atteindre l'état de transition - État initial → absorption d'énergie → état de transition instable (modification plus facile des liaisons) → état final - Absence de catalyseur/enzyme : énergie d'activation élevée - Présence de catalyseur/enzyme : énergie d'activation diminuée <i>Déroulement d'une réaction exergonique (ΔG négatif)</i>



Postulat de Linus Pauling, 1948

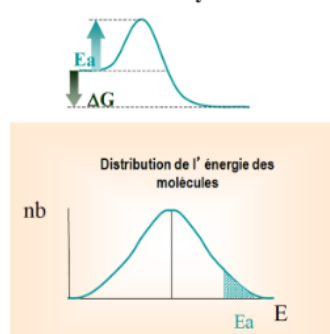
Ce qu'il dit :

- « Je pense que les enzymes sont des molécules dont la structure est **complémentaire de celle des complexes activés** des réactions qu'ils catalysent, c'est-à-dire de la configuration moléculaire intermédiaire entre celles des substrats et celles des produits de réactions des processus catalysés. L'attraction de la molécule d'enzyme pour le complexe activé conduirait ainsi à une **diminution de son énergie** et, par conséquent, à une **diminution de l'énergie d'activation** de la réaction et à une **augmentation de la vitesse** de réaction. »
- L'essence de l'efficacité de la catalyse enzymatique repose sur l'affinité de l'enzyme pour ses substrats d'une part et pour les états de transition d'autre part.

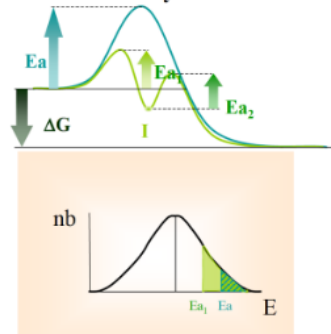
Barrière d'énergie d'activation et affinité

- Réaction non catalysée** : A et B (réactifs) doivent acquérir une importante énergie d'activation pour former A-B (produit)
- Réaction catalysée** (effet 1) : apport d'énergie à A et à B par la formation de liaisons de faible énergie entre l'enzyme (E) et les substrats (A et B)
- Réaction catalysée** (effet 2) : abaissement de la barrière par la liaison entre E et A+B alors que les réactifs sont en état de transition
- Avec une enzyme on **augmente donc l'énergie "de base" des réactifs** (2) et on **abaisse le seuil d'énergie de l'état de transition** (un peu 2 et surtout 3). Pourquoi ça accélère la réaction ? Raison statistique

Réaction non catalysée



Réaction catalysée



Barrière d'énergie d'activation et affinité

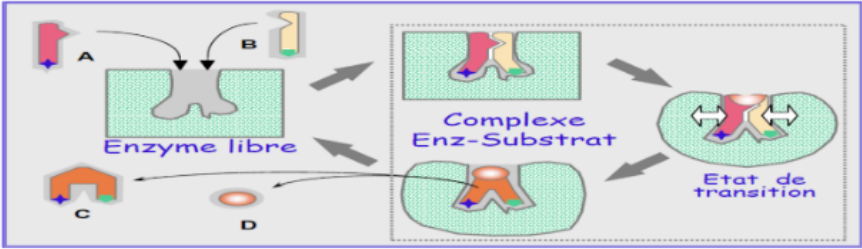
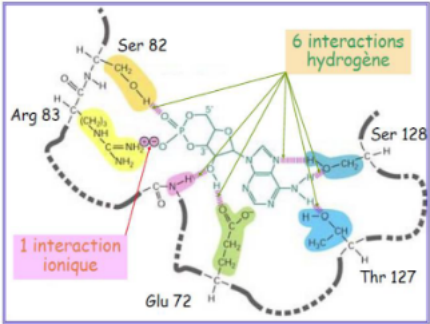
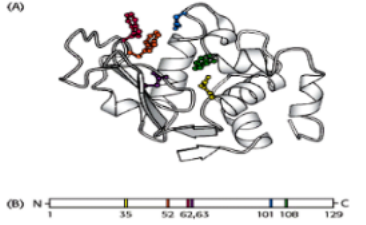


- Réaction non catalysée** : seule une petite partie des molécules de réactifs auront franchi à un moment donné la barrière d'activation et seront donc capables de se transformer en produit
- Réaction catalysée** : le nombre de molécules ayant franchi le seuil d'activation sera forcément augmenté et donc, à un moment donné, beaucoup plus de molécules de réactifs peuvent se transformer en produit → accélération de la réaction

Liaison enzyme-substrat et état de transition

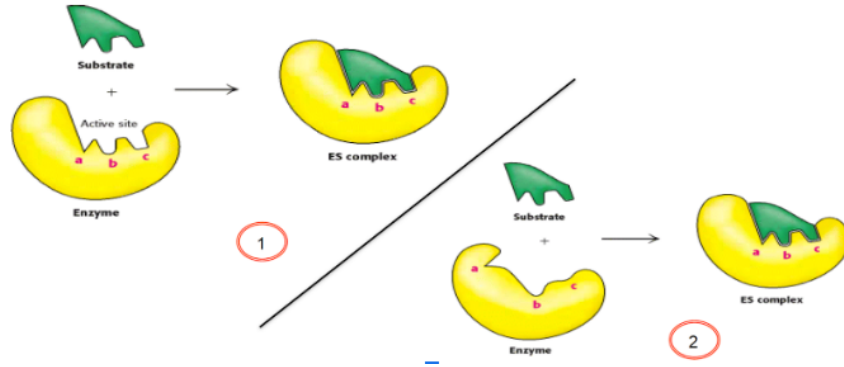
- Réaction non catalysée** : $A + B \rightarrow$ agitation naturelle et collisions $\rightarrow$ complexe de collision 1 (= A-B avec une certaine énergie) $\rightarrow$ si l'énergie est suffisante $\rightarrow$ état de transition (transformation) $\rightarrow$ complexe de collision 2 (C-D) $\rightarrow C + D$. La réaction peut avoir lieu dans le sens inverse



Liaison enzyme-substrat et état de transition	● Réaction catalysée : le complexe de collision 1 se forme dans le site actif de l'enzyme. La réaction peut aussi avoir lieu en sens inverse $A + B \text{ (réactifs ou substrats)} \rightleftharpoons C + D \text{ (produits)}$ Avec un catalyseur enzymatique : 
Causes structurales de l'affinité E/S et de la diminution de l'énergie d'activation de la réaction	 Exemple : liaison de l'AMPc  Le repliement d'une enzyme permet le rapprochement spatial des acides aminés du site actif ● Une réaction (un réactifs-substrat) = une enzyme ● Plusieurs milliers d'enzymes sont codées par le génome ● Site actif : zone de liaison du substrat (sillon sur enzyme)
Spécificité	● La spécificité est déterminée par la forme tridimensionnelle unique de chaque enzyme. ● Après repositionnement spatial très précis de la chaîne peptidique de l'enzyme, les acides aminées participant à la formation du complexe E-S sont positionnés favorablement pour former le site actif
Affinité	● L'affinité est déterminée par le nombre d'interactions possibles entre les atomes de S et E : plus il y en a, plus elle est élevée - o Interactions possibles : liaisons hydrogènes et hydrostatiques, interactions de Van Der Waals, liaisons covalentes (transitoires)



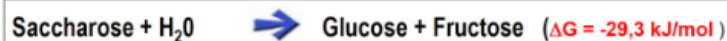
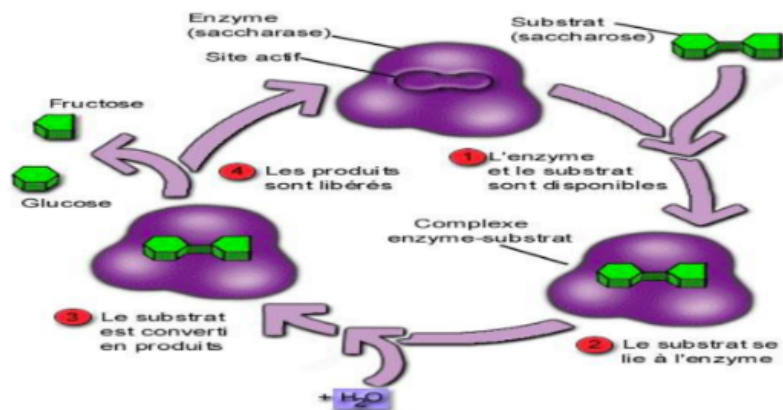
Reconnaissance enzyme- substrat



- **Où ?** Site de fixation du substrat (souvent combiné au site actif)
- **Comment ?** En **théorie**, reconnaissance de la complémentarité de structure, puis établissement des liaisons (a, b, c) de faible énergie (Schéma 1)
- En **réalité** : établissement des premières liaisons (b), puis adaptation optimale de l'enzyme au substrat et liaisons supplémentaires (a, c) (Schéma2)

Cycle catalytique

- Ici enzyme = **saccharase** suffixe « -ase » à la fin du nom de l'enzyme.
- **Le cycle catalytique :**



Exemple 1

Enzyme et substrat sont disponibles

Liaison du substrat à l'enzyme

Présence d'H₂O sur le site actif : le substrat (saccharose) est converti en produits (glucose + fructose) par hydrolyse

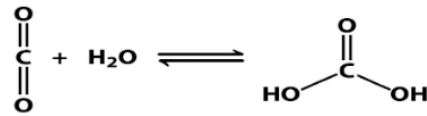
Les produits sont libérés dans le milieu



Exemple 2 avec vitesse du cycle catalytique

Exemple de la conversion du CO₂ (dissous dans le sang) en acide carbonique

Le cycle de conversion du substrat se fait rapidement; un enzyme peut catalyser 10³ à 10¹⁷ réactions par seconde.



Enzyme anhydrase carbonique : vitesse * 5.10⁶

- Ici enzyme = **anhydrase carbonique**. Sa vitesse est nécessaire pour permettre la régulation du pH sanguin.
- 1 molécule de CO₂ toute les cinq secondes serait transformée en acide carbonique
- En présence de l'enzyme, la vitesse de la réaction est multipliée par plusieurs millions de fois : dans l'organisme permet la régulation du pH.

Facteurs influençant l'efficacité de la catalyse

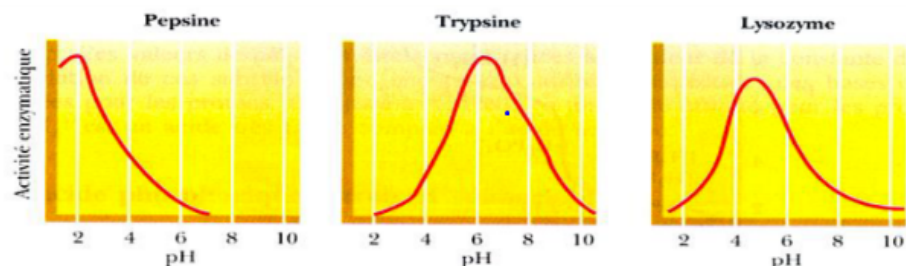
Paramètres qui interfèrent sur la formation des interactions à faible énergie

Paramètres

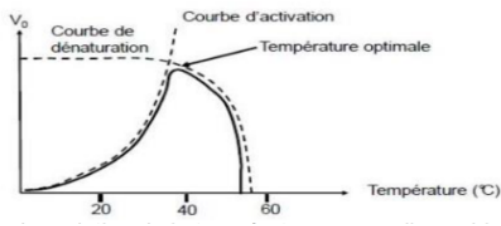
- pH et force ionique
- température
- cofacteurs
- activateurs / inhibiteurs

Le pH

- pH environnant peut modifier la **charge** des acides aminés polaires de l'enzyme impliqués dans la fixation du substrat
- Chaque enzyme a un maximum d'activité correspondant à son **pH optimum**, une de ses plus importantes caractéristiques
- **Pepsine** : action protéolytique (clivage des liaisons peptidiques) dans le suc gastrique (très acide) → pH optimum 2
- **Trypsine** : action protéolytique dans l'intestin grêle (plus alcalin) → pH optimum 6
- **Lysozyme** : digestion des parois bactériennes dans les larmes et la salive → pH optimum 5.



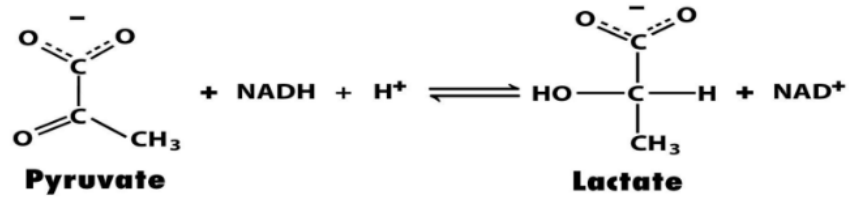


Température	Effets sur les réactifs	• L'énergie thermique (chaleur) stimule les ions entre les molécules de réactifs qui entrent en collision. Si la collision est suffisamment forte et apporte suffisamment d'énergie, les réactifs peuvent être placés dans leur état de transition (et se transformer naturellement en produits) • Loi d'Arrhénius décrit l'influence de la température sur la vitesse de réactions ($+10^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{vitesse} \times 10$) • <u>Attention</u>, l'augmentation de la température n'est pas une solution suffisante pour catalyser, car cela augmenterait la vitesse de toutes les réactions en même temps. Or le métabolisme doit choisir finement quelle réaction doit avoir lieu ou pas
	Effets sur les enzymes	 • Jusqu'à une certaine température : respect de la structure 3D de la protéine et augmentation de la vitesse de la réaction suivant la loi d'Arrhénius. • Dépassement du seuil $\rightarrow$ dénaturation $\rightarrow$ diminution de la vitesse de réaction par diminution des interactions à faible énergie (et donc moindre abaissement de la barrière de transition) : déstabilisation de la structure de l'enzyme : catalyse diminue • Existence d'une température optimale de réaction et d'une fine régulation de la température corporelle par l'organisme.

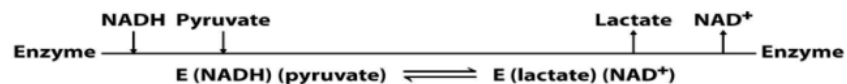


Cofacteurs

- = petites molécules additionnelles, souvent issues des **vitamines**
- souvent indispensables à la réaction, jouent leur rôle dans le site actif
- Carences en vitamines → maladies liées à une perte d'activité enzymatique
- *Exemple de la réduction du pyruvate en lactate*



Enzyme : lactate déhydrogénase



- L'enzyme a besoin d'un **donneur d'e-**, le **NADH** (cofacteur), sans lequel elle ne pourrait pas catalyser la réaction
 - o Le NADH se fixe sur l'enzyme
 - o Le pyruvate (substrat) arrive au site actif
 - o Le pyruvate est transformé en lactate (produit) et le NADH forme du NAD⁺
 - o Le lactate est éliminé
 - o Le NAD⁺ est libéré
- **Deux types de cofacteurs enzymatiques**
 - o Les **coenzymes** sont constituées de petites molécules souvent issues des vitamines : interviennent dans des réactions souvent de transfert de groupes chimiques simples comme le groupe carboxyle, par ex : pour la biotine
 - o Les **métaux** (forme ionique de ces métaux) qui sont très souvent présents au site actif d'enzyme et qui interviendront plutôt dans des réactions de transfert d'e-

Principaux cofacteurs enzymatiques

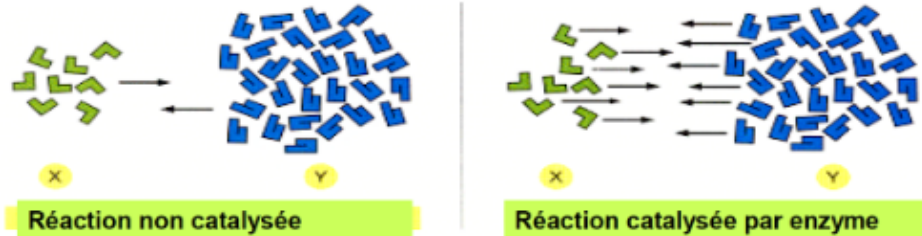
cofacteur	Enzyme
Coenzyme	
Thiamine pyrophosphate	Pyruvate dehydrogenase
Flavin adenine nucleotide	Monoamine oxidase
Nicotinamide adenine dinucleotide	Lactate dehydrogenase
Pyridoxal phosphate	Glycogen phosphorylase
Coenzyme A (CoA)	Acetyl CoA carboxylase
Biotin	Pyruvate carboxylase
5'-Deoxyadenosyl cobalamin	Methylmalonyl mutase
Tetrahydrofolate	Thymidylate synthase
Metal	
Zn ²⁺	Carbonic anhydrase
Zn ²⁺	Carboxypeptidase
Mg ²⁺	EcoRV
Mg ²⁺	Hexokinase
Ni ²⁺	Urease
Mo	Nitrate reductase
Se	Glutathione peroxidase
Mn	Superoxide dismutase
K ⁺	Propionyl CoA carboxylase



Enzymes et équilibre des réaction

Équilibre des réactions

- L'enzyme n'agit pas sur les paramètres thermodynamiques d'une réaction (ΔG). Elle ne fait **qu'augmenter la vitesse**. Elle ne change pas l'état d'équilibre



- À un moment donné, beaucoup plus de molécules de X seront transformées en Y et réciproquement
- Les enzymes catalysent les réactions **dans les deux sens**

Messages essentiels du cours

Fin du chapitre :)

- Enzyme : accélère la réaction sans modifier l'état d'équilibre
- Enzymes : abaissent **l'énergie d'activation** du substrat
- 1^{er} étape : formation du **complexe enzyme-substrat**
- Spécificité d'un substrat par des interactions/adaptation réciproques via des **liaisons de faibles énergies**
- Enzymes : stabilisent **l'état de transition**
- Transformation du substrat en produit, libéré avec l'enzyme : cycle catalytique
- Facteurs influençant la catalyse