

L.AS

# Enzymologie

Stage de pré-rentrée 2024  
Pôle Biochimie

Inspiré du cours du Professeur Carré

Tous droits réservés Tutorat Santé Brestois © Toute diffusion et reproduction,  
totale ou partielle, de ce document est interdite



## Petit message d'avertissement avant de commencer :

Nous vous rappelons que ce diaporama, réalisé par des étudiants, est une aide et **non un support de cours officiel** et ne peut donc pas être considéré comme un ouvrage de référence lors de l'examen de PASS ou de L.AS.

Il se base sur le **cours de l'année précédente** qui peut être **amené à être modifié** dans sa forme et son contenu au bon vouloir du professeur.

Have fun ;)



# Sommaire

---

## I. Qu'est-ce qu'une enzyme

- I. Définitions
- II. Propriétés spécifiques des enzymes et localisation
- III. Quelques définitions
- IV. Ordre de réaction
- V. Classification
- VI. Site actif

## II. Cinétique enzymatique

- I. Mesure et conditions pour déterminer une activité enzymatique
- II. Influence de la concentration
- III. Réaction à 2 substrats
- IV. Inhibiteurs des réactions enzymatiques

## III. Régulation des réactions enzymatiques

- I. Différents types de régulation
- II. Notion de physiologie



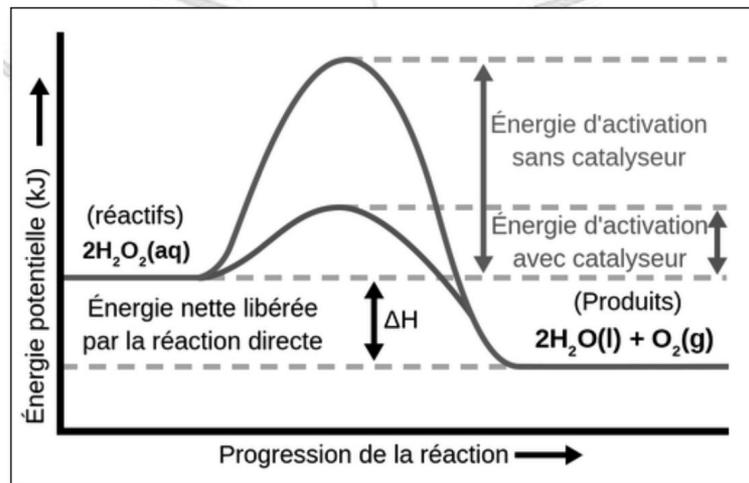
# Qu'est-ce qu'une enzyme ? - Définition

Les **enzymes** sont :

- Des **catalyseurs protéiques** (SAUF ribozymes),
- Présentes à **faible concentration** dans les cellules,
- Permettent **d'accélérer** une réaction chimique **sans altérer la position d'équilibre**,
- Catalysent la réaction dans les **2 sens**.

Un **catalyseur** :

- **Augmente la vitesse** d'une réaction chimique,
- Ne fait ni partie des réactifs, ni des produits,
- N'est **pas consommé**.



**Energie d'activation** : barrière à franchir pour que la réaction ait lieu.

Diminuée par : augmentation de la température, catalyseur, présence d'enzymes

# Qu'est-ce qu'une enzyme ? - Propriétés et localisation

---

Propriétés qui différencient les enzymes des autres catalyseurs :

- Le **pouvoir catalytique**,
- Leur **spécificité**,
- La **possibilité d'être régulées** (par des ions, des substrats, des modifications covalentes).

## SPÉCIFICITÉ DES ENZYMES

- Spécificité de **SUBSTRAT** → spécifiques pour la nature du substrat qu'elles utilisent
- Spécificité **d'ACTION** → spécifiques pour la nature de la réaction catalysée
- Certaines enzymes s'intéressent à tout un complexe moléculaire (moins spécifiques)
- Certaines ont une spécificité de groupe
- Spécificité **ABSOLUE**
- **STÉRÉOSPÉCIFIQUE**

## LOCALISATION

- **Tissulaire** : Ubiquistes = on peut les retrouver partout / Spécificité cellulaire = utilisées en diagnostic
- **Subcellulaire** : Permet la canalisation des réactions enzymatiques.  
Toutes les enzymes ne sont pas présentes dans tous les compartiments.



# Qu'est-ce qu'une enzyme ? - Quelques définitions

**Isoenzymes** = formes multiples d'une même enzyme

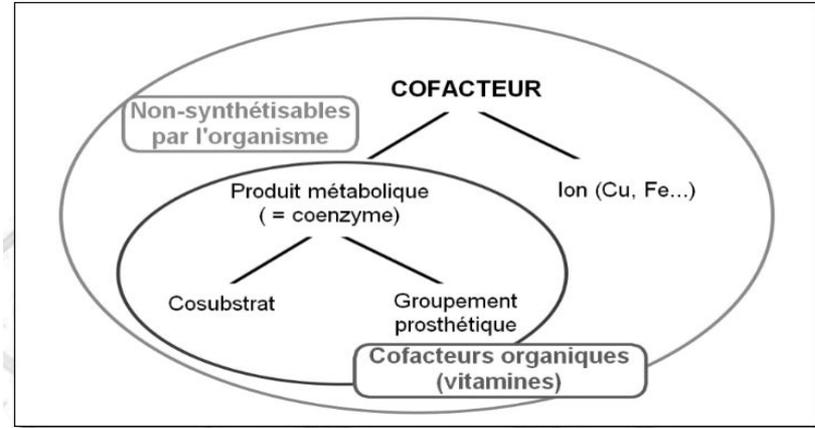
- Agissent sur le même substrat ;
- Catalysent la même réaction ;
- Sont souvent synthétisées par des organes différents ;
- Ont une structure primaire différente.

**Proenzymes** = précurseurs inactifs des enzymes.

Ces précurseurs s'activent après coupure et libération d'un peptide par :

- Modification du pH ;
- L'enzyme elle-même ;
- Une autre enzyme.

**Cofacteurs** = composants non-protéiques dont certaines enzymes ont besoin pour acquérir leur activité (ions métalliques, cofacteurs organiques = groupement prosthétiques).



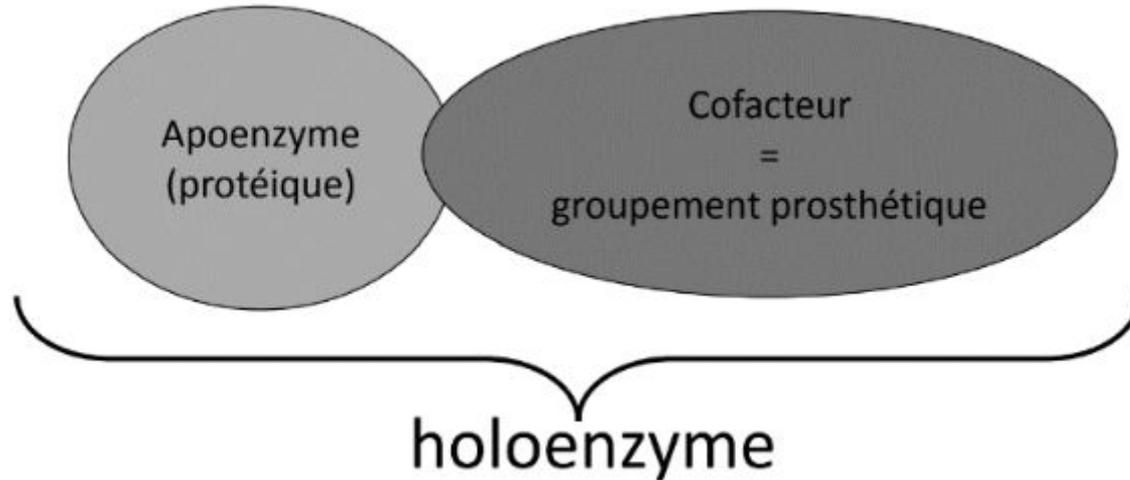
**Groupement prosthétique** = partie d'une molécule organique mais non-protéique liée à la structure protéique par des liaisons faibles et/ou des liaisons covalentes.

# Qu'est-ce qu'une enzyme ? - Quelques définitions

---

**Apoenzyme** = enzyme (protéine) pas encore liée à son cofacteur.

**Holoenzyme** = assemblage du cofacteur et de l'apoenzyme formant ainsi un complexe enzymatique catalytiquement actif.



# Qu'est-ce qu'une enzyme ? - Notion d'ordre d'une réaction

La vitesse d'une réaction étant à chaque instant proportionnelle à la quantité de substrat restant.

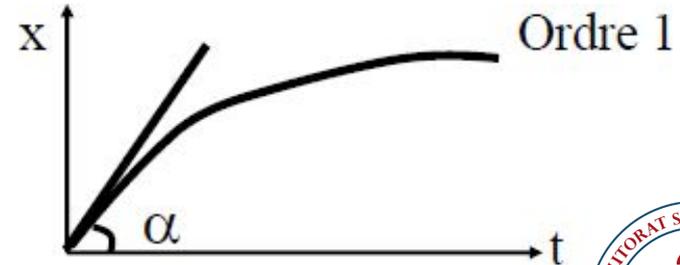
$$V = k(S - x)$$

Deux cas:

Réaction d'ordre nul ou 0



Réaction d'ordre 1



# Qu'est-ce qu'une enzyme ? - Classification des enzymes

Classification fondée sur type de réaction qu'elles catalysent.

**Premier nombre** : type de réaction qu'elles catalysent.

Enzyme connue sous nom commun qui dérive du **substrat principal + ase**.

Premier nombre EC	Classe enzymatique	Type de réaction catalysée
1.	Oxydoréductase	Oxydation-réduction : un donneur d'hydrogène ou d'électron est l'un des substrats
2.	Transférase	Transfert d'un radical par une réaction de type : $A-X + B \rightarrow A + B-X$
3.	Hydrolase	Clivage hydrolytique de : C-C, C-N, C-O et autres liaisons
4.	Lyase	Coupure (non hydrolytique) de C-C, C-N, C-O et autres liaisons faisant apparaître une double liaison ou l'addition de groupements à double liaison
5.	Isomérase	Modification de l'arrangement spatial d'une molécule
6.	Ligase	Condensation de deux molécules, associée à l'hydrolyse d'une liaison à haute énergie.

# Qu'est-ce qu'une enzyme ? - Site actif

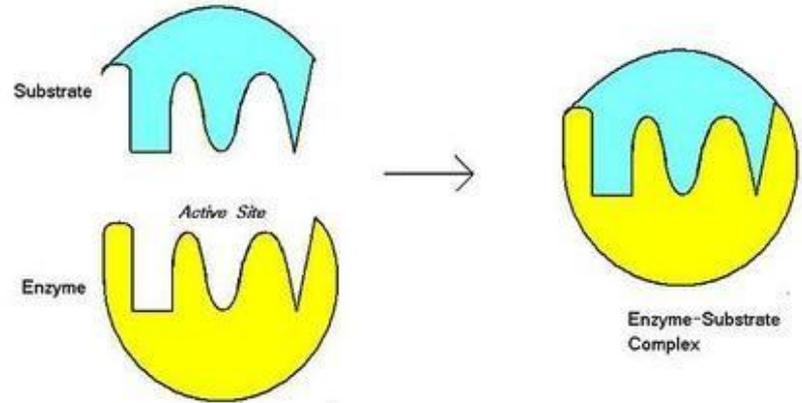
Déroulement d'une réaction enzymatique :

- 1- Reconnaissance substrat par l'enzyme (complémentarité de structure)
- 2- Combinaison substrat/enzyme (transitoire)
- 3- Transformation du substrat en produit
- 4- Libération du produit

Le site actif comporte 2 sites voisins :

- Site de **liaison** (reconnaissance).
- Site **catalytique** (réaction).

Le site actif représente **moins de 5%** de l'aire totale de l'enzyme.



# Cinétique enzymatique - Mesure et détermination d'une activité enzymatique

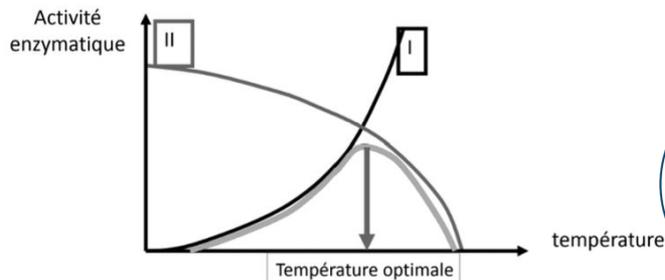
Il est possible de mesurer l'activité de l'enzyme, sa capacité à catalyser la réaction → par **spectroscopie/spectrophotométrie** (quantité de substrats disparue ou de produits formée).

**Conditions à respecter pour la détermination :**

- Choix du substrat ;
- pH de la réaction ;
- La température de la réaction ;
- Proportions d'enzyme et de substrat ainsi que la durée de la réaction.

**Paramètres influençant l'activité enzymatique :**

- pH (pH optimum) ;
- Température (activation ou inactivation).



# Cinétique enzymatique - Influence de la concentration

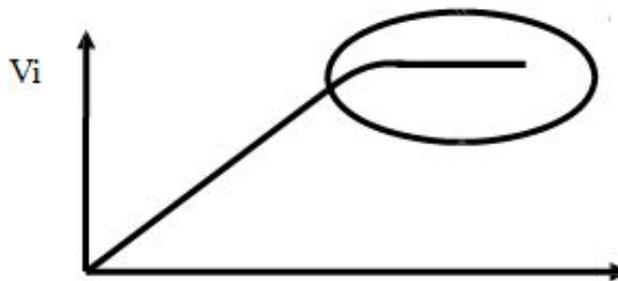
Vitesse réaction enzymatique : quantité de substrat transformée/unité de temps

Quand  $[S] \gg [E]$ , la vitesse initiale  $V_i$  est **proportionnelle** à la concentration de l'enzyme.

→ **Influence de la concentration en enzyme sur  $V_i$ .**

**$V_i$**  : Vitesse instantanée au temps 0 de la réaction.

En pratique, la concentration en enzyme  $[E]$  est toujours trop faible pour atteindre le stade de l'asymptote, entouré sur le graphique.



# Cinétique enzymatique - Influence de la concentration

---

Quand **[S]** augmente, mais **[E]** non, la **V<sub>i</sub>** varie  
→ **Influence de la concentration en substrat sur V<sub>i</sub>**

Modélisation mathématique : **Équation de Michaelis-Menten**

Si **[S] >> K<sub>m</sub>**, **V = V<sub>max</sub>**  
→ La vitesse est **indépendante de [S]**.

Si **[S] << K<sub>m</sub>**, **V = (V<sub>max</sub>/K<sub>m</sub>).[S]**  
→ La vitesse est **proportionnelle à la [S]**.

**K<sub>m</sub>** : [S] pour laquelle la vitesse est égale à la moitié de la V<sub>max</sub>.

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



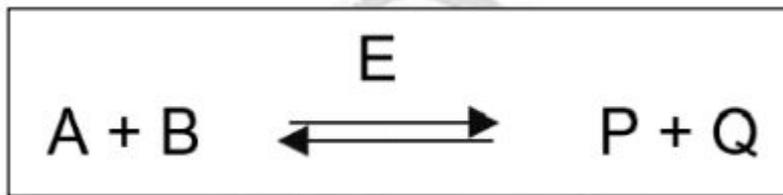
# Cinétique enzymatique - Réactions à 2 substrats

En pratique, une réaction à un seul substrat est une situation rare. Le plus souvent un autre substrat intervient :

- **Eau** → situation comparable à une réaction à un substrat.
- **Autre** substrat ou coenzyme → les **constantes de dissociation de chacun des complexes formés interviennent.**

Mécanisme dit “**Bi-Bi**” = réaction à 2 substrats.

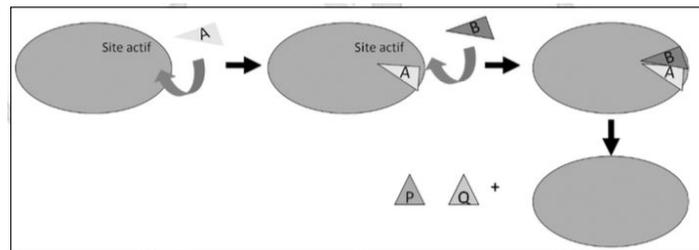
Les 2 substrats ne peuvent **pas se fixer sur l'enzyme simultanément** mais peuvent se retrouver sur le même site (fixation à différents moments).



# Cinétique enzymatique - Réactions à 2 substrats

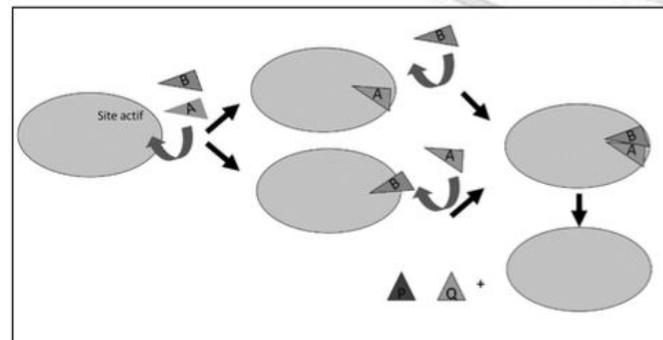
## Mécanisme Bi-Bi séquentiel

Les substrats se fixent à l'enzyme dans un **ordre impératif**.



## Mécanisme Bi-Bi aléatoire

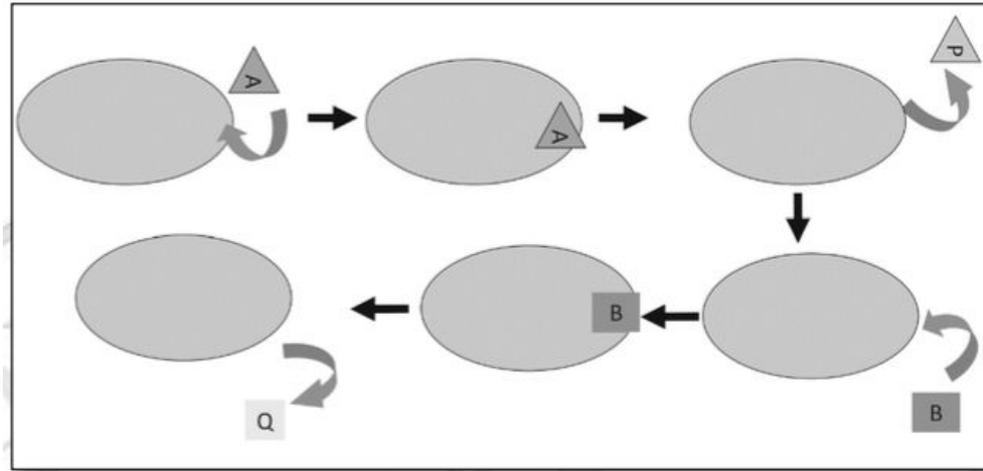
Les substrats se fixent à l'enzyme **sans ordre précis**.



# Cinétique enzymatique - Réactions à 2 substrats

## Mécanisme Bi-Bi ping-pong

Les substrats se fixent à l'enzyme ne sont **jamais combinés à l'enzyme en même temps**.



# Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

---

**Inhibiteurs** = substance qui a pour effet de diminuer la vitesse de la réaction enzymatique.

3 types :

- Inhibition **IRRÉVERSIBLE** = inactivation.
- Inhibitions **RÉVERSIBLES** :
  - Compétitives ;
  - Non compétitives ;
  - Incompétitives.
- Inhibitions par excès de substrat.

## **ATTENTION**

*Ne pas confondre les 3 types  
d'inhibitions avec les 3 classes des  
inhibitions réversibles*



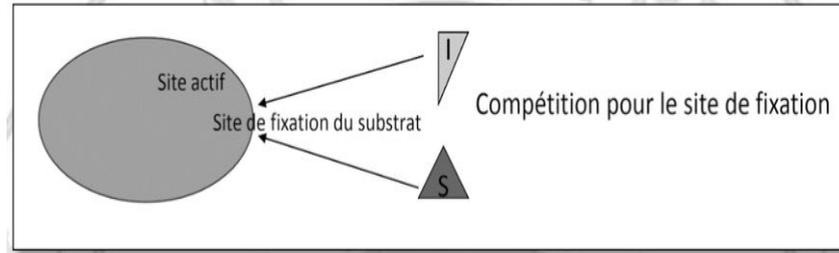
# Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

## Inhibitions IRRÉVERSIBLES

→ Liaison de façon covalente à l'enzyme bloquant les groupes fonctionnels situés sur les sites actifs.

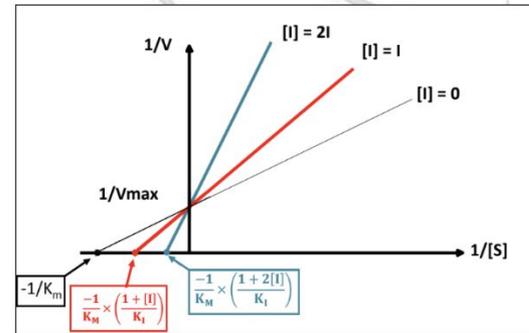
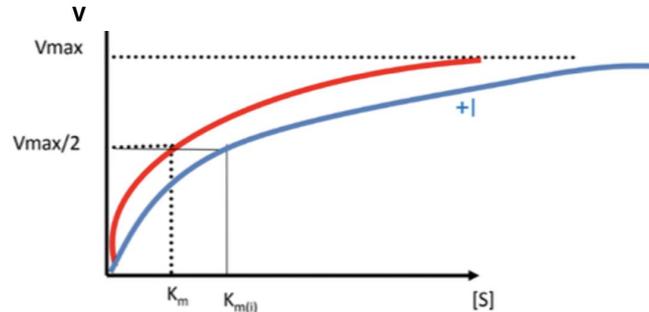
## Inhibitions RÉVERSIBLES

→ Perturbent la cinétique enzymatique



- **Inhibiteurs compétitifs**

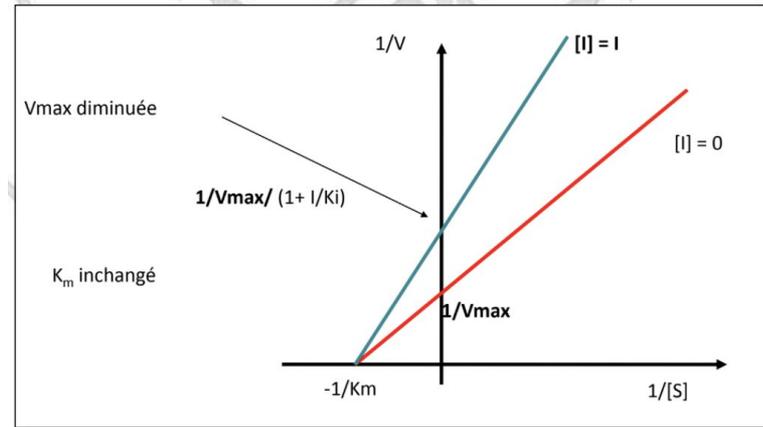
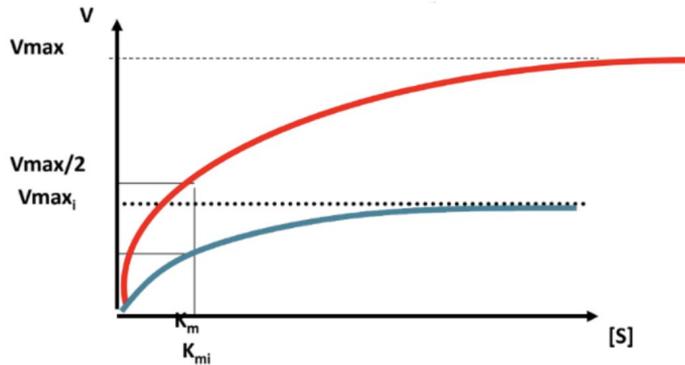
→ Entrent en compétition pour se fixer sur le même site enzymatique.



# Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

- Inhibiteurs non-compétitifs**

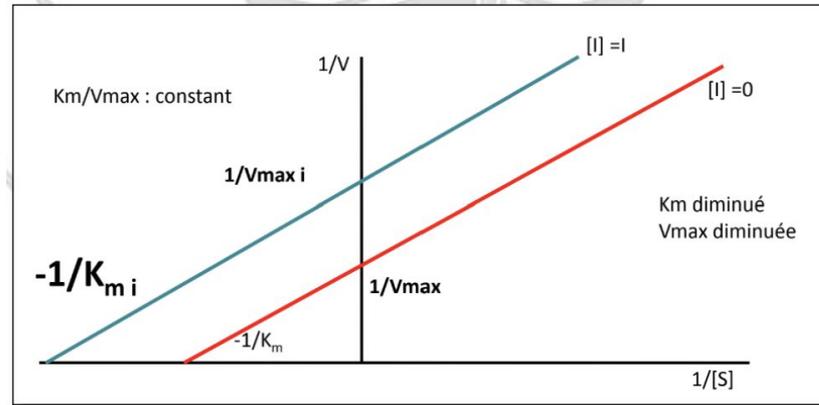
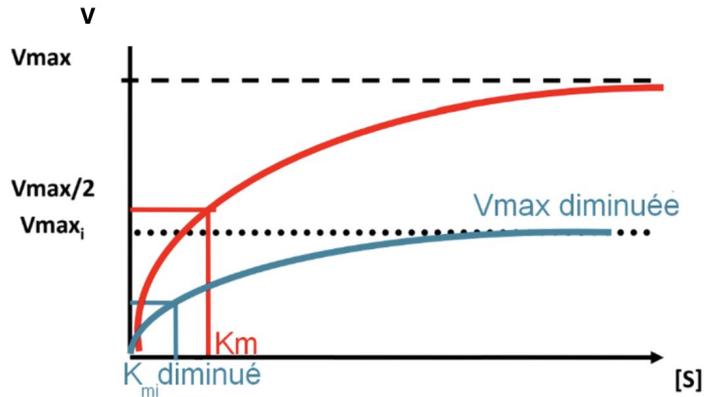
→ Se fixent sur un site différent du site actif (agissent comme si la concentration en enzyme active est diminuée).



# Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

- **Inhibiteurs incompétitifs**

→ Se fixent uniquement sur le complexe ES (enzymes substrats). Le substrat doit donc nécessairement être fixé sur l'enzyme afin que l'inhibiteur effectue son action).



# Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

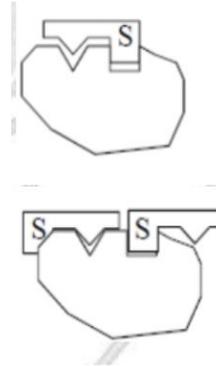
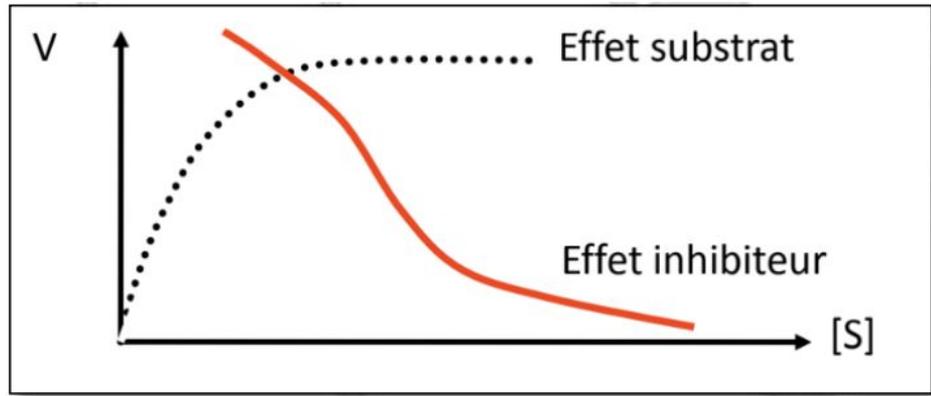
## RÉCAP INHIBITIONS RÉVERSIBLES :

Type d'inhibition	Principe	Km	Vmax
<b>COMPÉTITIVE</b>	I sur le même site que S	<b>Augmenté</b> (affinité diminue)	<b>Inchangée</b>
<b>NON COMPÉTITIVE</b>	I sur un site différent du site actif	<b>Inchangé</b>	<b>Diminuée</b>
<b>INCOMPÉTITIVE</b>	I uniquement sur le complexe ES	<b>Diminué</b> (affinité augmente)	<b>Diminuée</b>



# Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

- **Inhibitions par excès de substrat**  
→ enzyme inhibée lorsque le substrat est en excès.

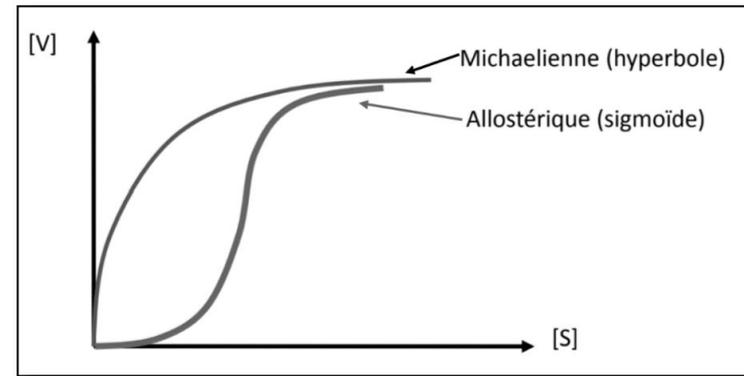


Complexe ES **actif**

Complexe ES **inactif**

# Régulation des réactions enzymatiques - Différents types

- Régulation par **compartmentation cellulaire**
  - Hydrophiles dans le cytosol / hydrophobes dans les membranes
- Régulation par des **modifications covalentes** (modifications post-traductionnelles)
- Régulation de la **synthèse d'enzymes**
- Régulation **allostérique** (spécifiques aux enzymes allostériques)
  - Enzymes composées de **plusieurs sous-unités** (protomères),
  - Effet **coopératif** entre ces protomères,
  - Courbe allostérique **sigmoïde**.



# Régulation des réactions enzymatiques - Différents types

Régulation **allostérique** :

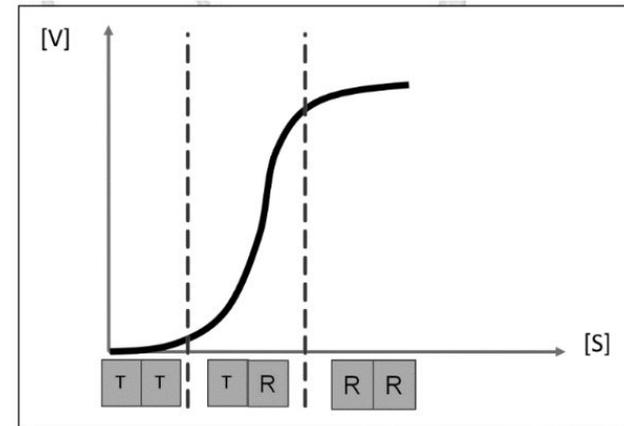
- **Effet coopératif** grâce à la structure quaternaire,
- Permet que la fixation d'une 1ère molécule facilite la fixation d'une 2ème,
- 2 conformations pour l'oligomère :
  - **Conformation R** (relâchée) → **forte affinité** pour S,
  - **Conformation T** (tendue) → **faible affinité** pour S,

Lors d'un changement de conformation la symétrie est conservée.

Au départ : sous unités **tendues**, **affinité faible**, **vitesse lente**.

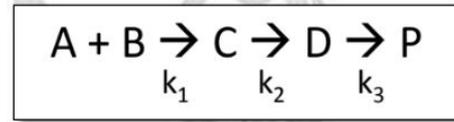
1ère sous-unité fixe le substrat : sous-unité se **relâche**, **affinité + vitesse augmentent**.

Transition allostérique : effet coopératif, les 2 sous-unités sont **relâchées**, **affinité + vitesse encore meilleures**.

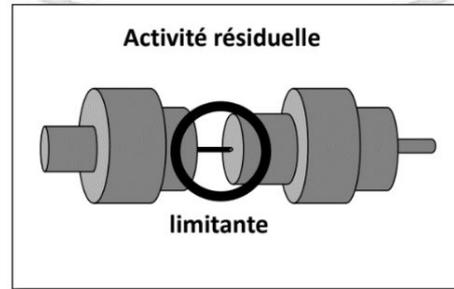


# Régulation des réactions enzymatiques - Notions de physiologie ou de physiopathologie

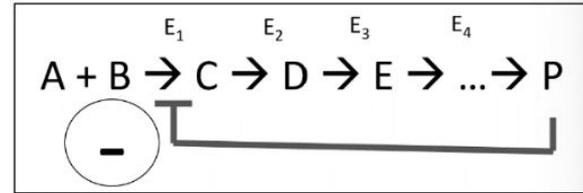
Processus comprenant plusieurs réactions consécutives :



Si l'une des réactions (ex :  $C \rightarrow D$ ) est beaucoup plus lente que les autres (c'est-à-dire si  $k_2$  est faible), alors la réaction (ici  $C \rightarrow D$ ) est dite **limitante** et cela peut expliquer certaines pathologies.



Les voies métaboliques sont **souvent régulées par rétro-inhibition** (ou feed-back négatif).



# VRAI ou FAUX

---

Les enzymes sont des catalyseurs protéiques qui permettent d'augmenter la vitesse de la réaction chimique mais altèrent la position d'équilibre.



# VRAI ou FAUX

---

Les enzymes sont des catalyseurs protéiques et permettent d'augmenter la vitesse de la réaction chimique mais **altèrent** la position d'équilibre.

**FAUX**

Les enzymes sont bien des catalyseurs protéiques et permettent d'accélérer la réaction chimique mais **N'ALTÈRENT PAS** la position d'équilibre.  
En effet, on va arriver plus vite à l'état d'équilibre mais on ne le modifie pas.



# VRAI ou FAUX

---

La spécificité de substrat et d'action sont 2 spécificités des enzymes.



# VRAI ou FAUX

---

La spécificité de substrat et d'action sont 2 spécificités des enzymes.

**VRAI**

De plus certaines enzymes sont :

- moins spécifiques,
- d'autres ont une spécificité de groupe,
- d'autres sont très spécifique,
- certaines sont stéréospécifiques.



# VRAI ou FAUX

---

Une holoenzyme et un groupement prosthétique forment une apoenzyme qui est un complexe catalytiquement actif.

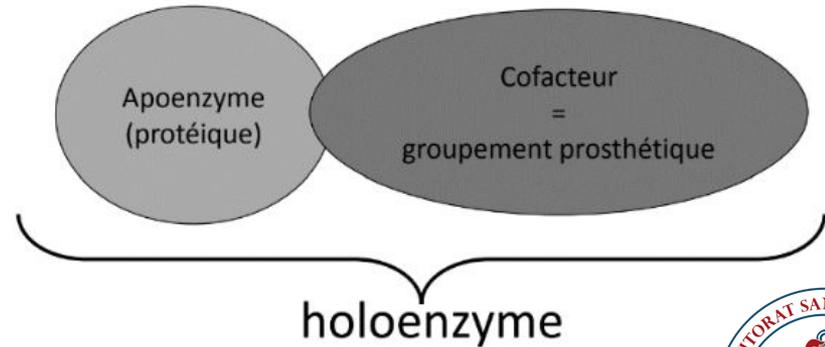


# VRAI ou FAUX

Une holoenzyme et un groupement prosthétique forment une apoenzyme qui est un complexe catalytiquement actif.

**FAUX**

Apoenzyme + groupement prosthétique = **holoenzyme** (complexe catalytiquement actif)



# FIN

---

MERCI POUR VOTRE ATTENTION !!!

