

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 :

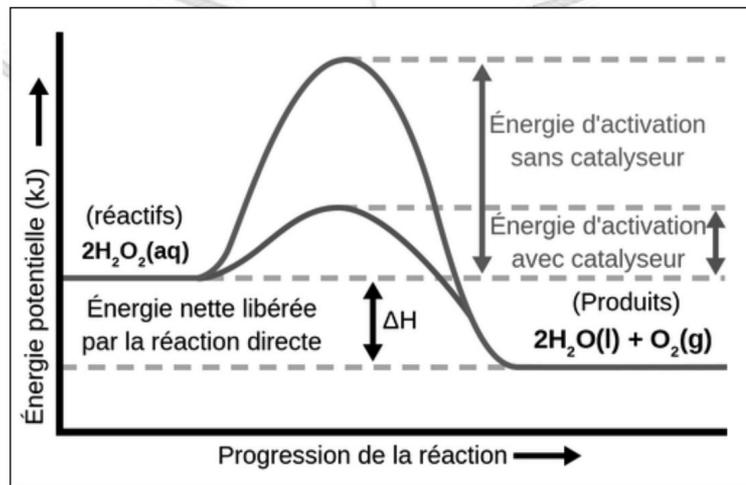
- Des **catalyseurs protéiques** (SAUF ribozymes),
- Présentes à **faible concentration** dans les cellules,
- Permettent **d'accélérer** une réaction chimique **sans altérer la position d'équilibre, (on arrive plus vite à l'équilibre sans le déplacer)**
- Catalysent la réaction dans les **2 sens**.

Energie d'activation :

- **Barrière à franchir** pour que la réaction ait lieu.
- Elle est diminuée par : augmentation de la température, catalyseur, présence d'enzymes.

Un **catalyseur** :

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



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

Propriétés qui différencient les enzymes des autres catalyseurs :

- Leur **pouvoir catalytique** : elles peuvent augmenter la vitesse de la réaction de 10^{14} fois,
- Leur **spécificité**, (catalysent des réactions précises)
- 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**
- Certaines sont **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

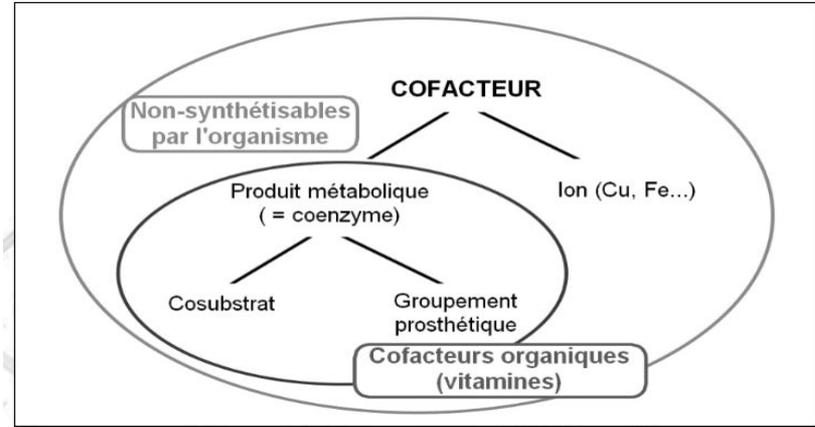
- Agissent sur le **même substrat** ;
- Catalysent la **même réaction** ;
- Sont souvent synthétisées par des organes différents ;
- Ont une structure primaire différente.

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).

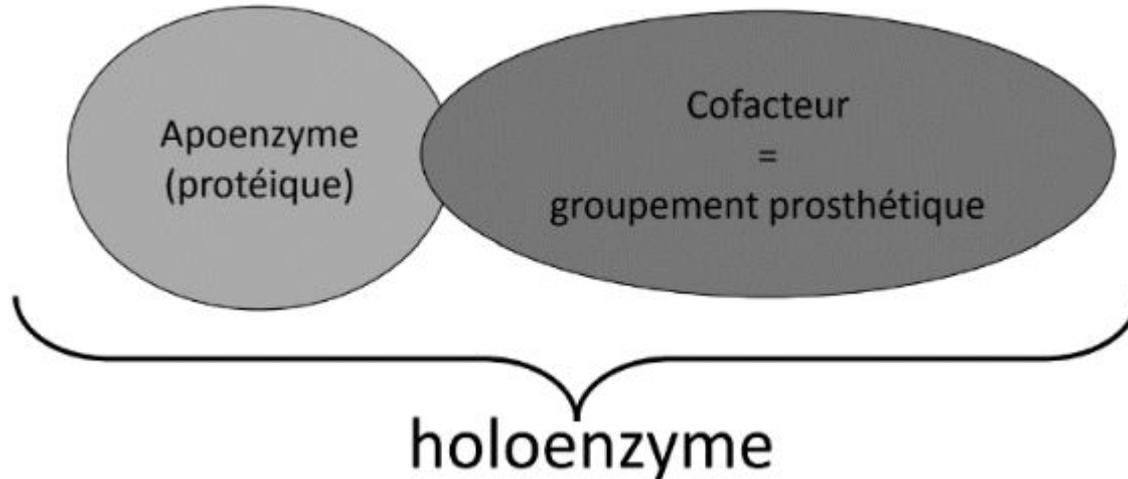


Groupement prosthétique = partie d'une molécule organique mais **non-protéique liée à la structure protéique** par des liaisons faibles et/ou des liaisons covalentes.

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.

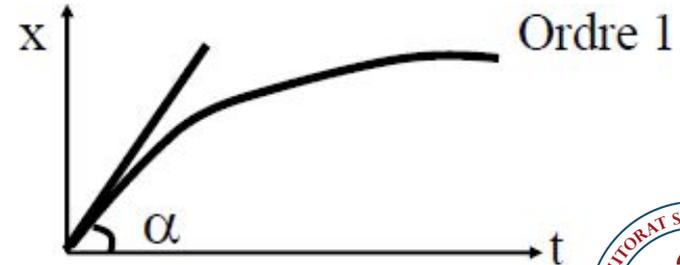
$$V = k(S - x)$$

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**.

ex : peptidases qui réagissent avec des peptides

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

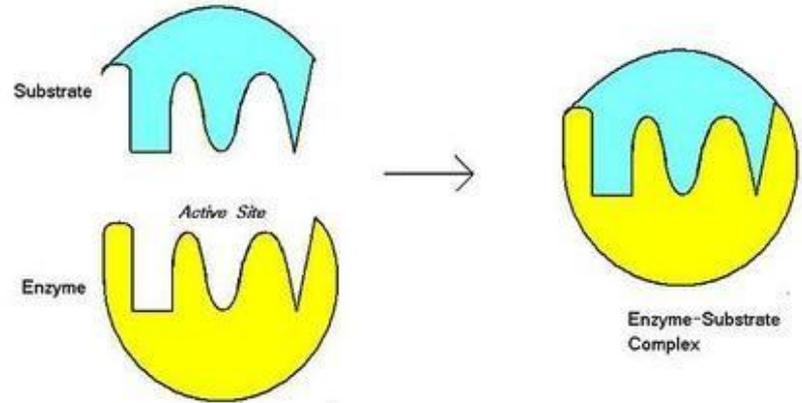
Déroulement d'une réaction enzymatique :

- 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** (en mesurant la quantité de substrats disparue ou de produits formée).

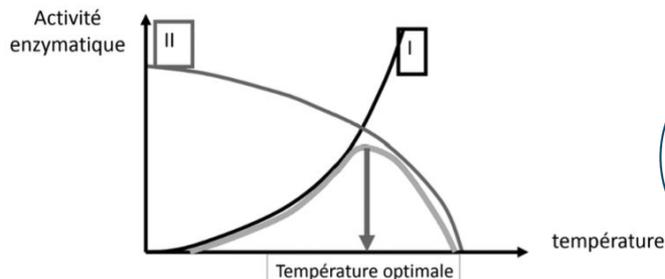
Conditions à respecter pour la détermination :

- 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).

NB : Les conditions doivent être telles que l'activité est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et à la durée de la réaction.



Cinétique enzymatique - Influence de la concentration

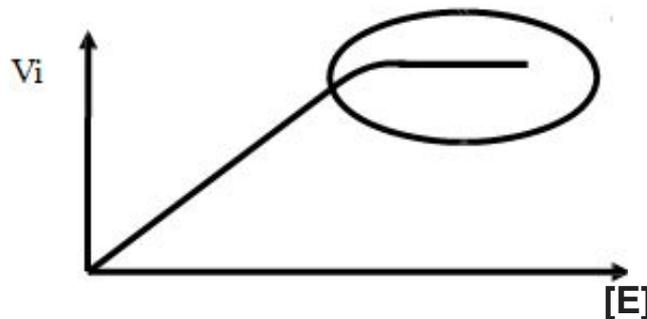
Vitesse réaction enzymatique : quantité de substrat transformée/unité de temps

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_i** varie
→ **Influence de la concentration en substrat sur V_i**

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

Si **[S] >> K_m**, **V = V_{max}**
→ La vitesse est **indépendante de [S]**.

Si **[S] << K_m**, **V = (V_{max}/K_m).[S]**
→ La vitesse est **proportionnelle à [S]**.

K_m : [S] pour laquelle la vitesse est égale à la moitié de la V_{max}.

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



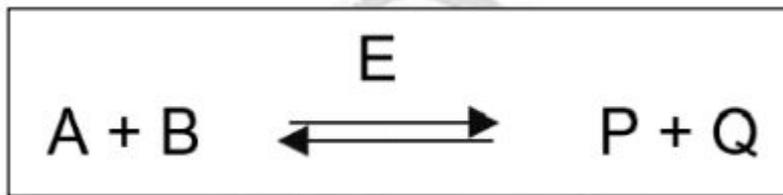
Cinétique enzymatique - Réactions à 2 substrats

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.

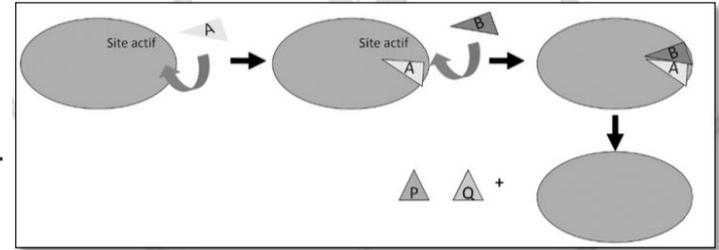
Les 2 substrats **ne peuvent pas se fixer sur l'enzyme simultanément** mais peuvent se retrouver sur le même site (fixation à différents moments).



Cinétique enzymatique - Réactions à 2 substrats

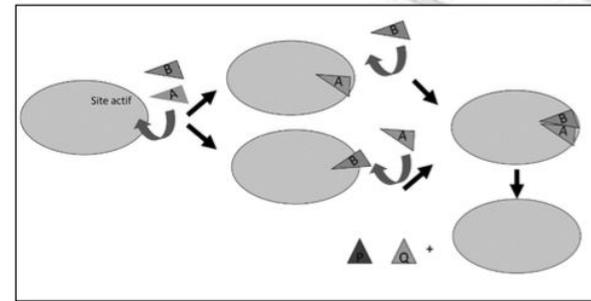
Mécanisme Bi-Bi séquentiel

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



Mécanisme Bi-Bi aléatoire

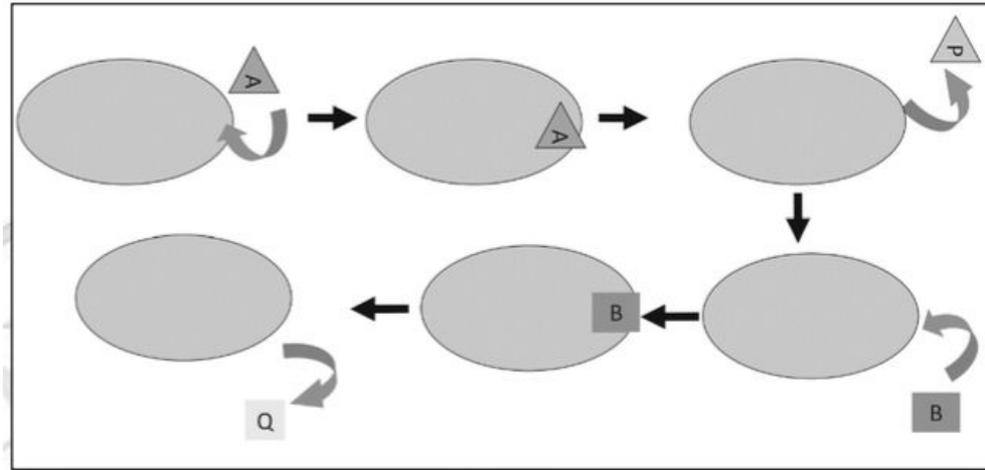
Les substrats se fixent à l'enzyme **sans ordre précis**.



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*



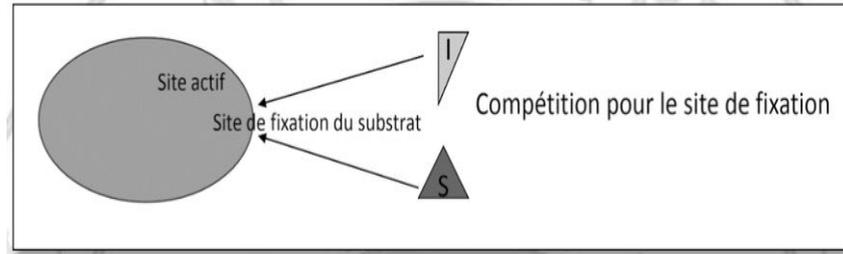
Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

Inhibitions IRRÉVERSIBLES

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

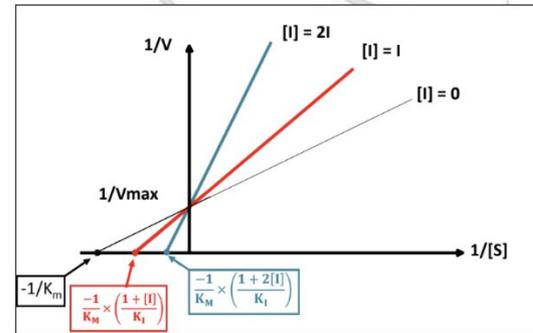
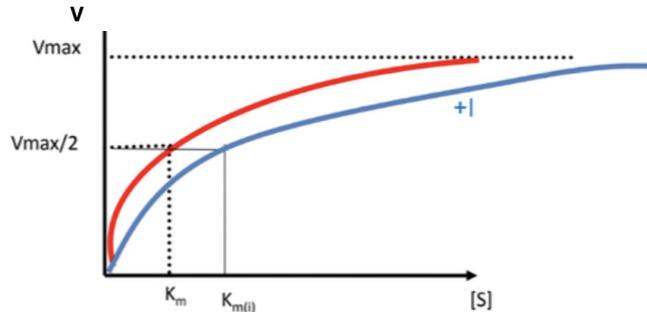
Inhibitions RÉVERSIBLES

→ Perturbent la cinétique enzymatique



- **Inhibiteurs compétitifs**

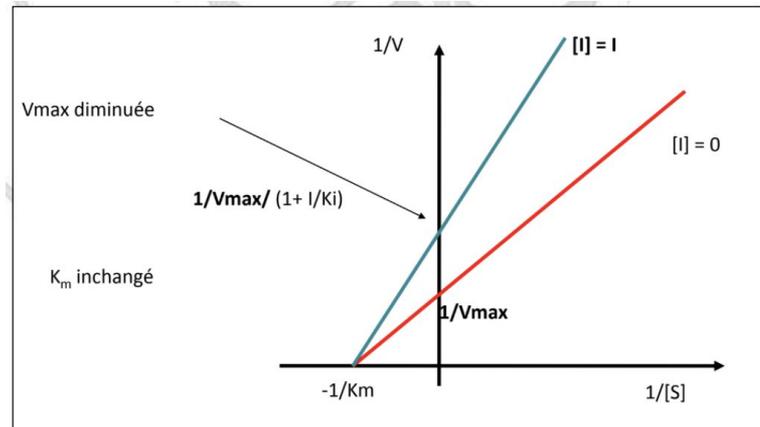
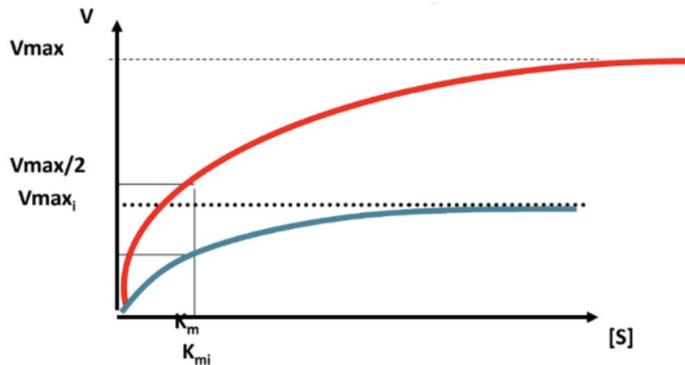
→ Entrent en compétition pour se fixer sur le même site enzymatique.



Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

- **Inhibiteurs non-compétitifs**

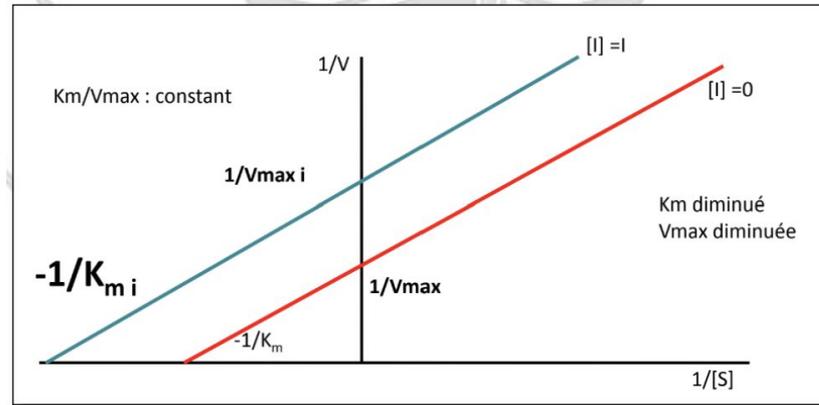
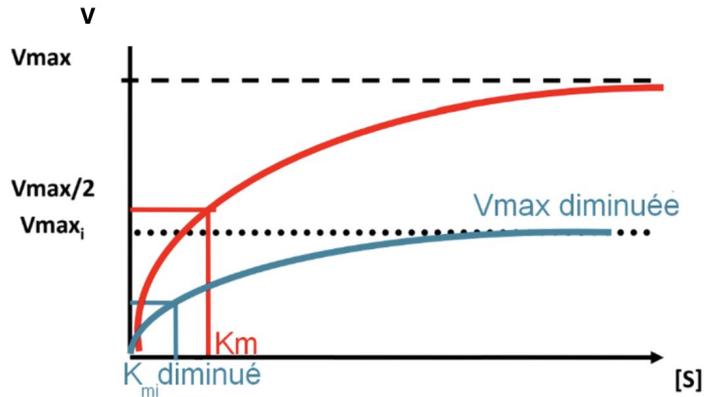
→ Se fixent sur un site différent du site actif (agissent comme si la concentration en enzyme active est diminuée).



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 :

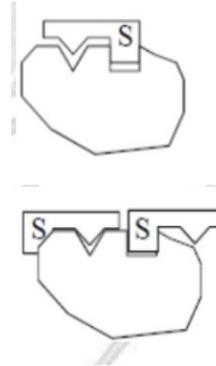
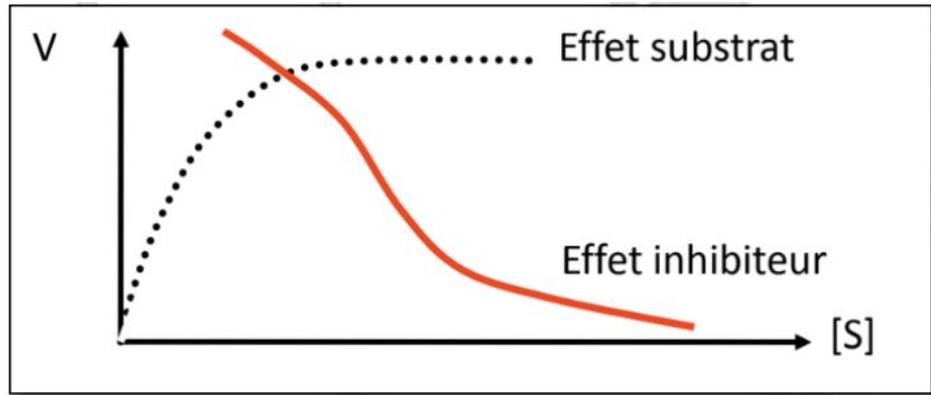
Type d'inhibition	Principe	Km	Vmax
COMPÉTITIVE	I sur le même site que S	Augmenté (affinité diminue)	Inchangée
NON COMPÉTITIVE	I sur un site différent du site actif	Inchangé	Diminuée
INCOMPÉTITIVE	I uniquement sur le complexe ES	Diminué (affinité augmente)	Diminuée



Cinétique enzymatique - Inhibiteurs

- **Inhibitions par excès de substrat**

→ Enzyme inhibée lorsque le substrat est en excès car l'excès de substrat **bloque le site actif** de l'enzyme.



Complexe ES **actif**

Complexe ES **inactif**

Régulation des réactions enzymatiques - Différents types

- Régulation par **compartimentation cellulaire**
 - Enzymes hydrophiles dans le cytosol / E hydrophobes dans les membranes
- Régulation par des **modifications covalentes** (modifications post-traductionnelles)
- Régulation de la **synthèse d'enzymes**

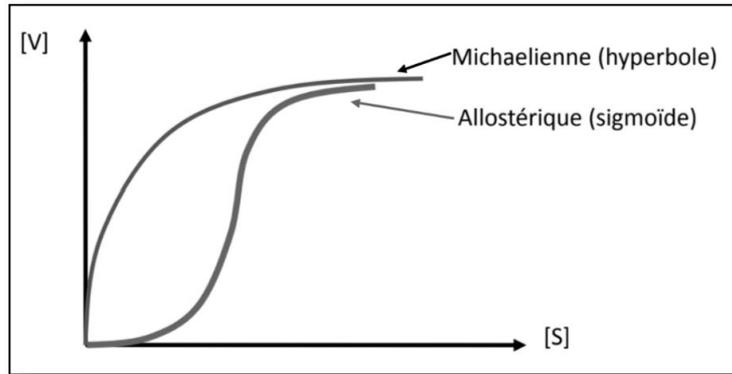
Certaines réactions enzymatiques peuvent être temporairement stoppées car l'enzyme et le substrat ne sont pas dans le même compartiment.



Régulation des réactions enzymatiques - Différents types

- Régulation **allostérique** (spécifiques aux enzymes allostériques)
 - Enzymes composées de **plusieurs sous-unités (=protomères)**,
 - Effet **coopératif** entre ces protomères,
 - Courbe allostérique **sigmoïde**.

NB : Les enzymes allostériques sont des enzymes qui possèdent un autre site capable de fixer **spécifiquement** et de façon **réversible** un effecteur.



Régulation des réactions enzymatiques - Différents types

Régulation **allostérique** :

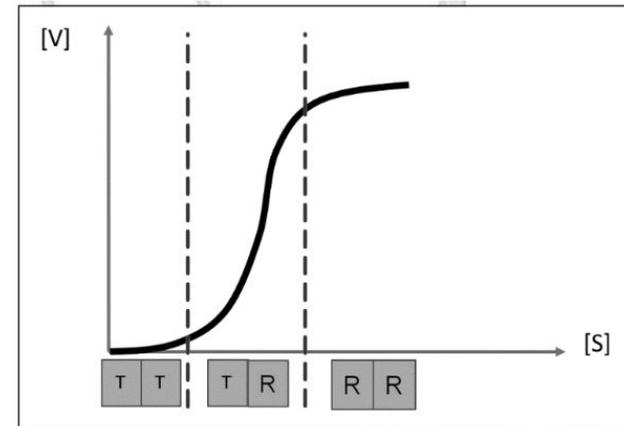
- **Effet coopératif** grâce à la structure quaternaire,
- La fixation **non covalente** d'une 1ère molécule facilite la fixation d'une 2ème,
- 2 conformations pour l'oligomère :
 - **Conformation R** (relâchée) → **forte affinité** pour S,
 - **Conformation T** (tendue) → **faible affinité** pour S,

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

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

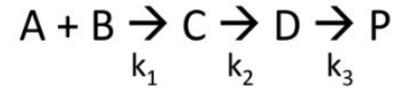
1ère sous-unité fixe le substrat : sous-unité se **relâche**, **affinité + vitesse augmentent**.

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

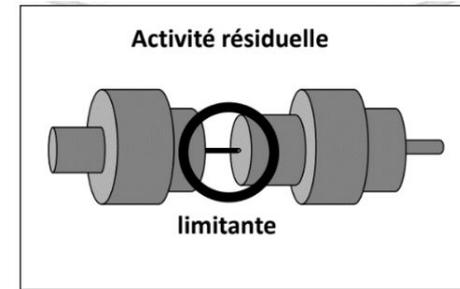


Régulation des réactions enzymatiques - Notions de physiologie ou de physiopathologie

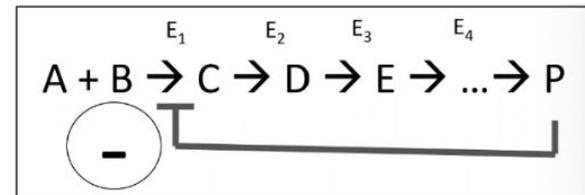
Processus comprenant plusieurs réactions consécutives :



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 elles **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.

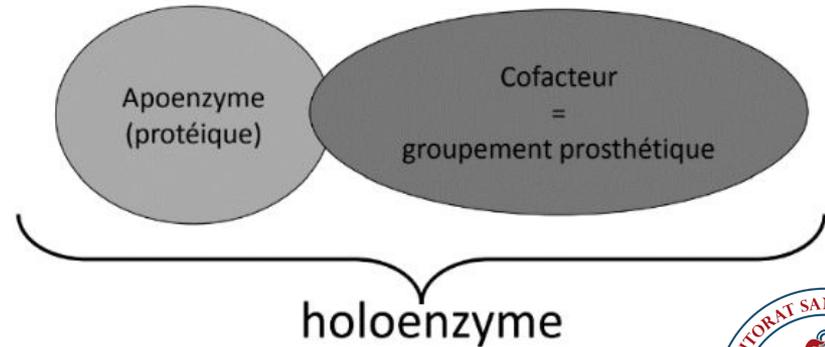


VRAI ou FAUX

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 !!!

