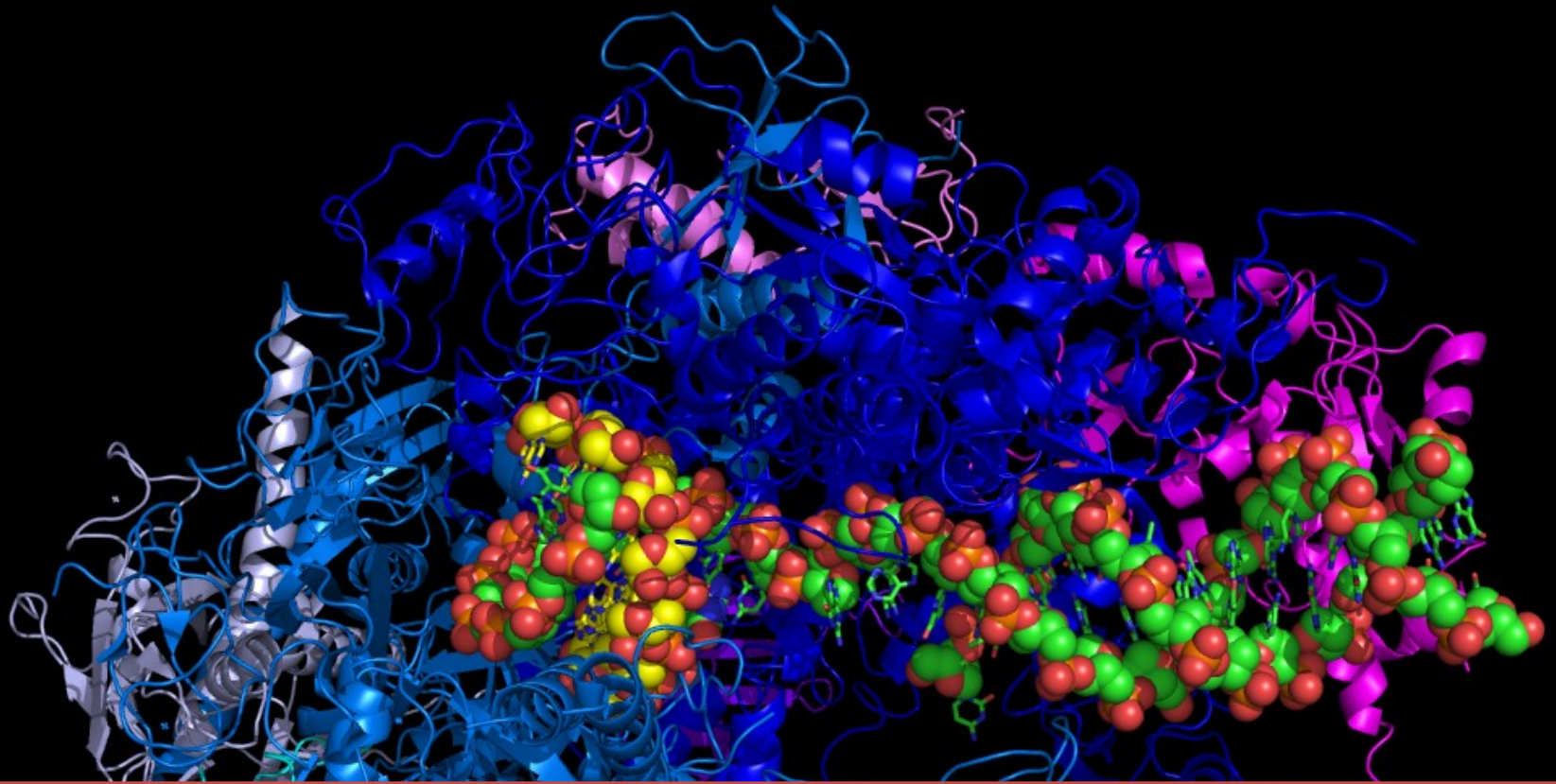




Chapitre 05

Les enzymes, des biomolécules aux propriétés catalytiques

Histoire des sciences

1783 : **Lazzaro Spallanzani** a rapporté que la viande est liquéfiée par un extrait gastrique. Il a noté également que la température a un grand effet.

Depuis 1812 : des substances sont capables d'accélérer des réactions chimiques sans être elles-mêmes modifiées : notion de **catalyseur**.

Histoire des sciences

A. Payen (1795-1871) et J.F. Persoz (1805-1868) qui démontrèrent en 1830 qu'une substance extraite de l'orge germé est capable de provoquer la dégradation de l'amidon dans des conditions compatibles avec la vie . Trois ans plus tard, ils isolent la substance et montrent qu'une substance similaire est présente dans la salive.

→ Il existe donc des catalyseurs chez les êtres vivants. Celle ci est appelé **diatase.**

Histoire des sciences

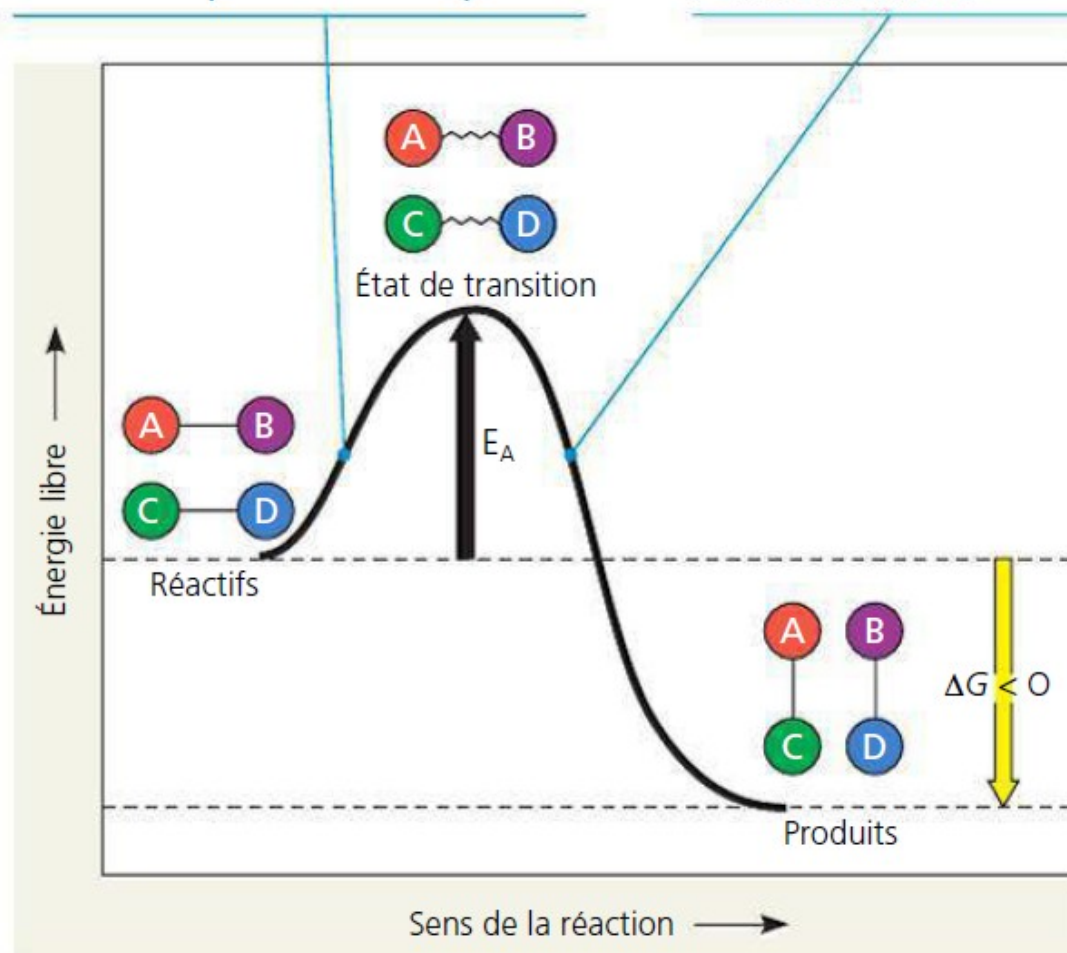
1878 par W. Kühne proposa le nom d'enzyme ("En-" et "zumê", signifiant "dans le levain")

pour qualifier ces ferments.

L'addition du suffixe "ase" au nom du substrat d'une enzyme pour dénommer cette enzyme fût proposé par Emile Duclaux en 1898.

Les réactifs AB et CD doivent absorber suffisamment d'énergie de l'environnement pour atteindre l'état de transition instable où des liaisons peuvent se rompre.

Des liaisons se rompent, et d'autres se forment. Ce processus dégage de l'énergie dans l'environnement.



▲ **Figure 8.12** Le profil énergétique d'une réaction exergonique.

Dans cette réaction hypothétique, A, B, C et D représentent des *portions* de molécules. Sur le plan thermodynamique, il s'agit d'une réaction exergonique, la valeur de ΔG est négative et la réaction se produit spontanément. Cependant, l'énergie d'activation (E_A) représente une barrière qui

Notre but est de comprendre comment fonctionnent les catalyseurs biologiques que sont les enzymes sont si efficaces.

I Mode de fonctionnement des enzymes.[TP07 partie 1]

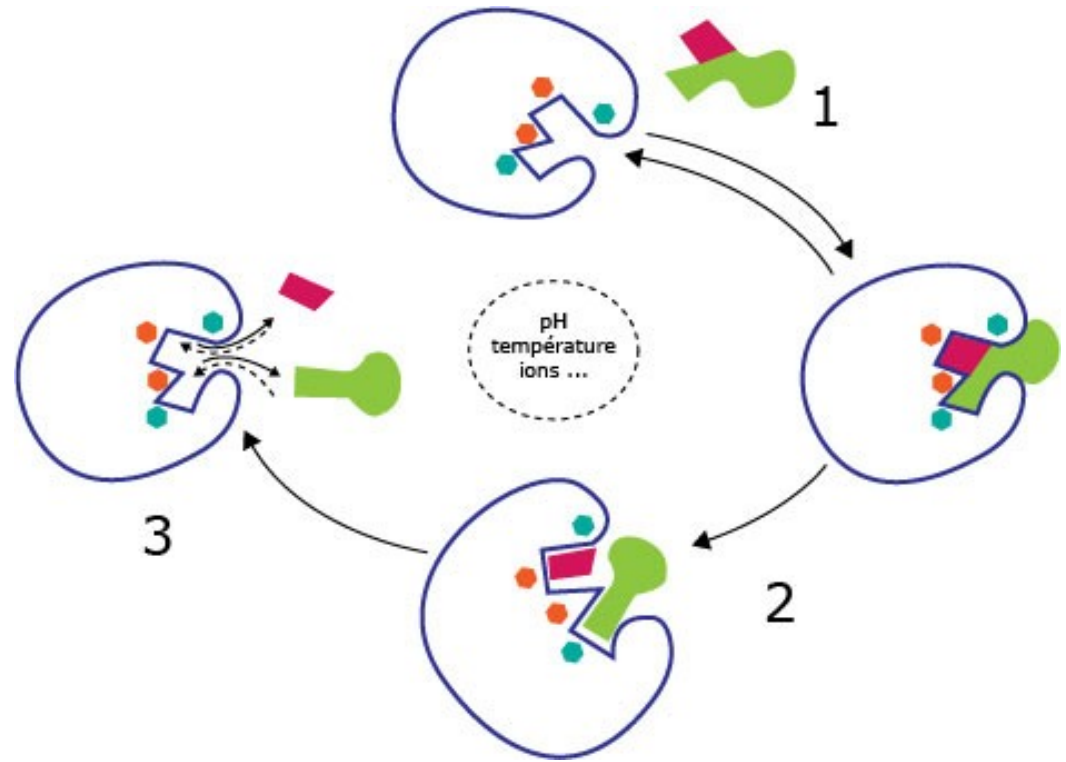
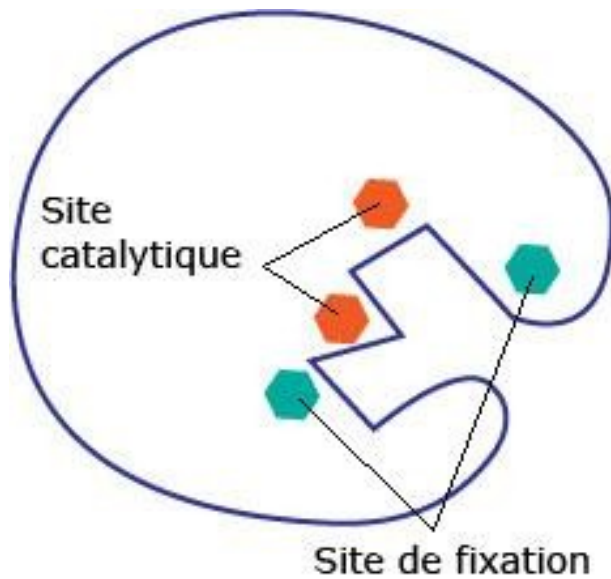
Les protéines enzymatiques sont des catalyseurs de réactions chimiques

→ vitesse accélérée des réactions chimiques et abaissement de l'énergie d'activation

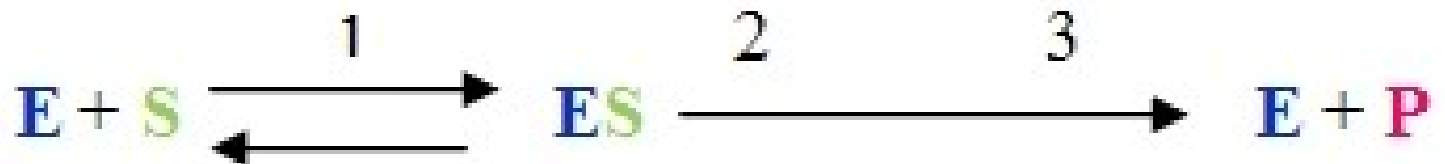
→ réactions sont spécifiques du(des) substrat(s)

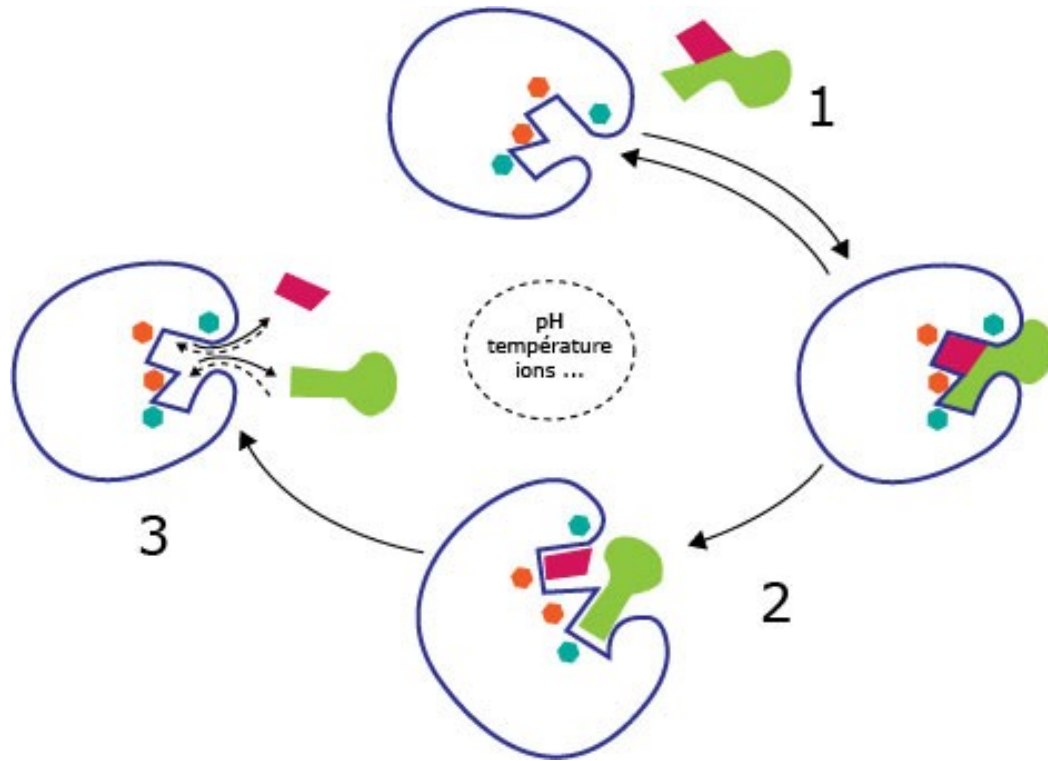
→ c'est la structure tridimensionnelle → relation de type clé-serrure entre l'enzyme et son substrat

→ ne peut catalyser qu'un seul type de transformation Substrat(s) → Produit(s)



site actif composé
d'un site de liaison
au substrat (qq aa)
et d'un site
catalytique (qq aa)

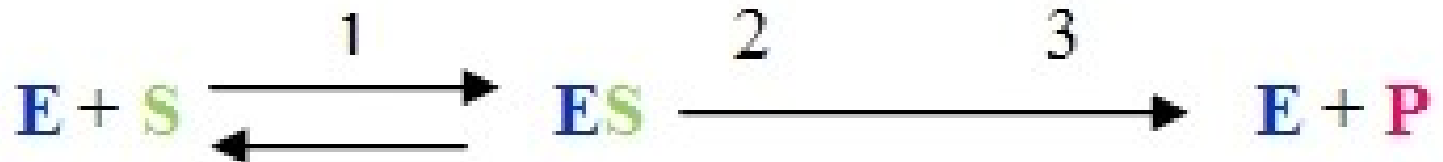


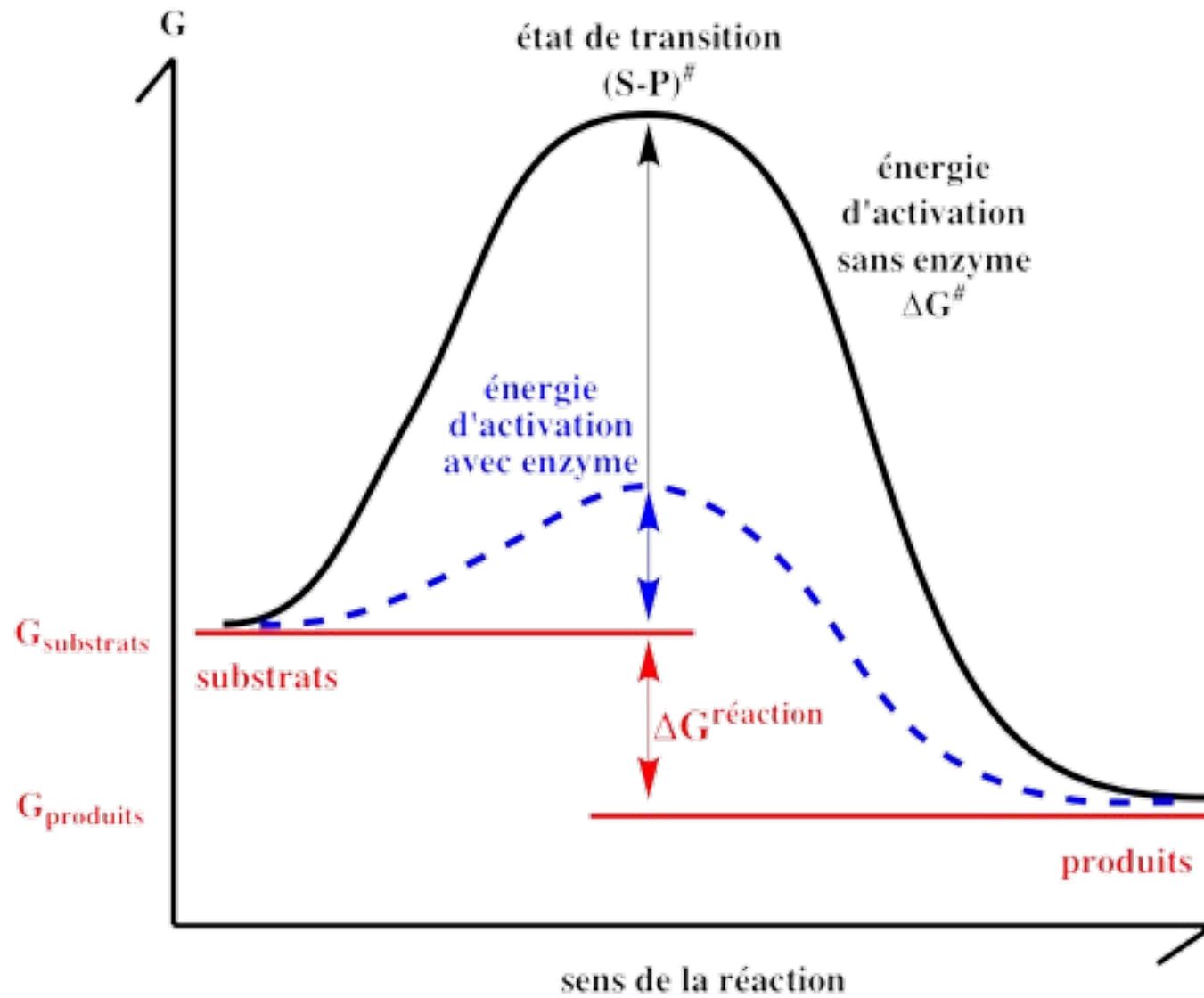


- 1 : Formation d'un complexe enzyme-substrat**, cette réaction est réversible, le complexe peut se désunir avant que la réaction ne commence.
- 2 : Activation de la réaction**, le substrat est transformé en produit.
- 3 : Libération du produit**, le complexe enzyme / substrat est rompu

Les réactions catalysées par les enzymes peuvent être découpées en plusieurs étapes.

Dans le cas de l'amylase : E : amylase S : amidon
P : glucose.





Un substrat peut subir plusieurs types de réactions métaboliques.
La présence de telle ou telle enzyme va orienter son « destin » métabolique...

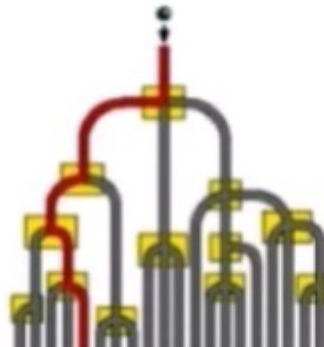
Enzymes et choix de la voie métabolique



1) Sans catalyse enzymatique



2) catalyse enzymatique réaction 1



Diminution de l'énergie libre



Les enzymes sont donc les outils
de la cellule.

Parenthèse hors programme.

L'équation de Michaelis-Menten est une expression mathématique décrivant les paramètres cinétiques d'une réaction chimique catalysée par une enzyme michaelienne.

C'est le mécanisme réactionnel pour la transformation d'un substrat S en un produit P par une enzyme E. Ce mécanisme comporte deux étapes et fait intervenir un intermédiaire réactionnel, le complexe enzyme-substrat, noté ES.

Étape 1- liaison enzyme/substrat,

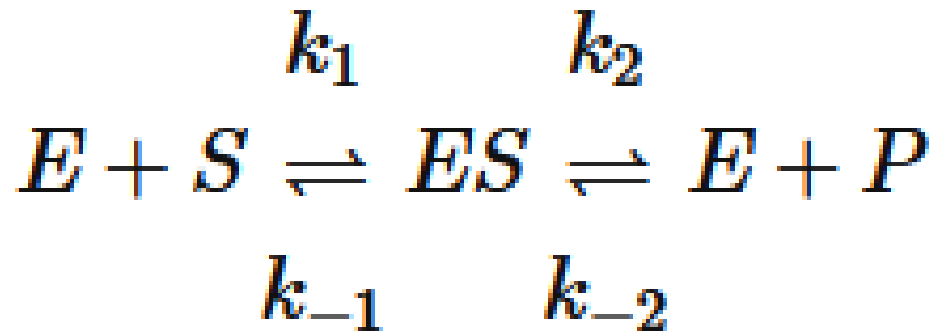
Étape 2- libération enzyme/produit.

k_1 , k_{-1} , k_2 et k_{-2} sont les constantes de vitesse des différents actes élémentaires tel que :

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] + k_{-2}[E][P]$$

ou

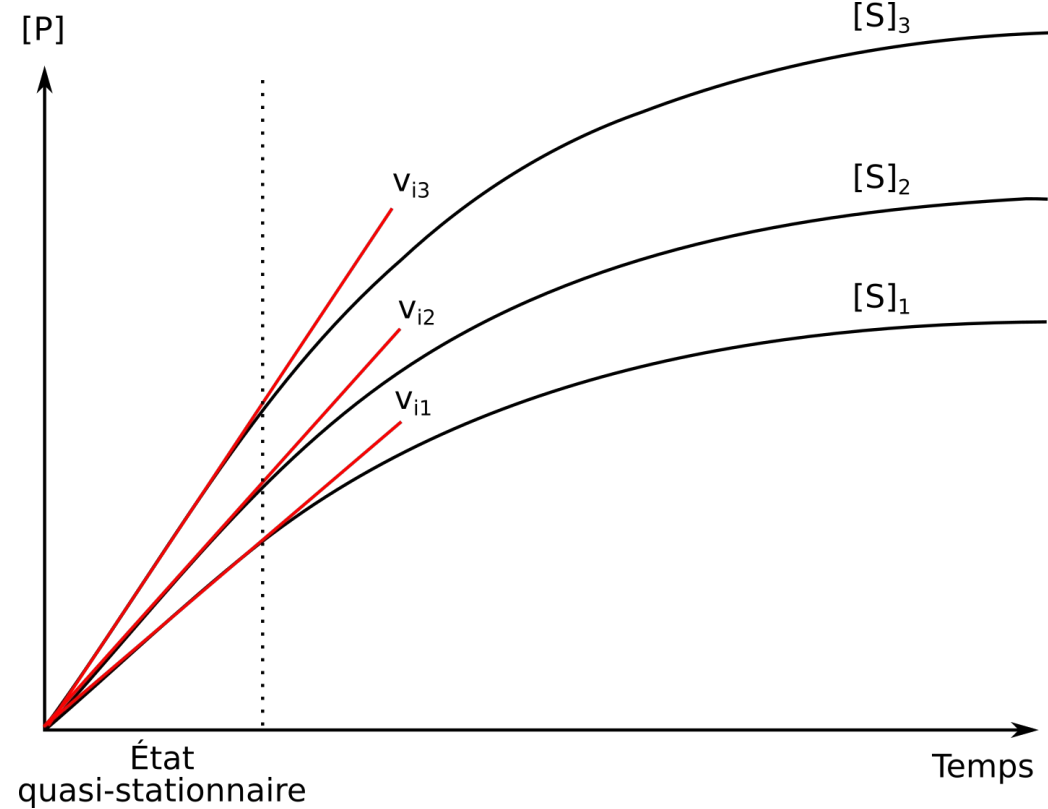
$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] - k_{-2}[E][P]$$



Parenthèse hors programme.

La vitesse de réaction (caractérisée par la vitesse d'apparition du produit, soit $v = d[P]/dt$) varie avec le temps (voir graphique 1).

Pour être dans les conditions Michaeliennes, il faut que $[S] \gg [E]$ et que $[P] \approx 0$. Se placer au début de la réaction, à l'état initial est donc compatible.



k_1 , k_{-1} , k_2 et k_{-2} sont les constantes de vitesse des différents actes élémentaires tel que :

$$d[ES]/dt = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] + k_{-2}[E][P]$$

ou

$$d[P]/dt = k_2[ES] - k_{-2}[E][P]$$

Parenthèse hors programme.

vitesse de réaction caractérisée par la vitesse d'apparition du produit, soit $v = d[P]/dt$, varie avec le temps.

Pour être dans les conditions Michaeliennes, il faut que $[S] \gg [E]$ et que $[P] \approx 0$. Se placer au début de la réaction, à l'état initial est donc compatible.

→ Tout ES produit vient de $E + S$ et non de $E + P$ car $[P]$ négligeable

→ $[ES]$ reste constante. Mathématiquement, cela se traduit par $d[ES]/dt = 0$.

→ $[S] = [S]_0 - [ES]$ or $[E] \ll [S]$ donc $[ES] \ll [S]$

donc $[S] = [S]_0$

Dans ses conditions, ils établissent une expression :
$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}$$

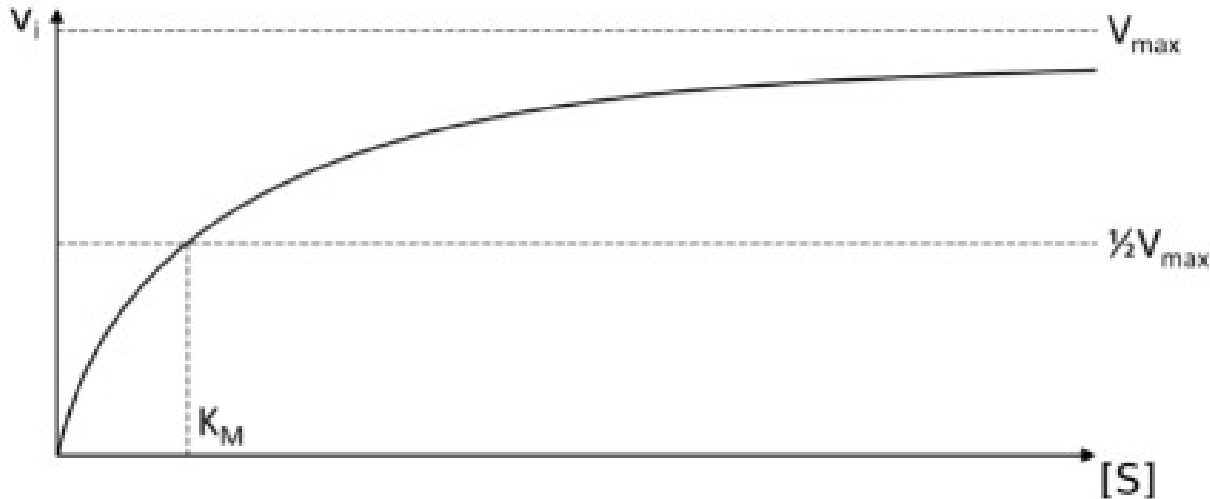
Et posent la constante $K_M = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}$.

Parenthèse hors programme

Ils en déduisent que : $v_i = \frac{v_{max}[S]}{K_M + [S]}$ donc pour $v_i = v_{max}/2$, $K_M = [S]$

Grâce à de nombreuses mesures de v_i en fonction de $[S]$ différentes, on peut tracer la courbe de relation v_i en fonction de $[S]$

On peut donc déterminer V_{max} graphiquement (asymptote) et en déduire K_M .
On pourra ensuite déterminer v_i en fonction de toute $[S]$ pour cette réaction.



II- Variabilité du fonctionnement des enzymes.

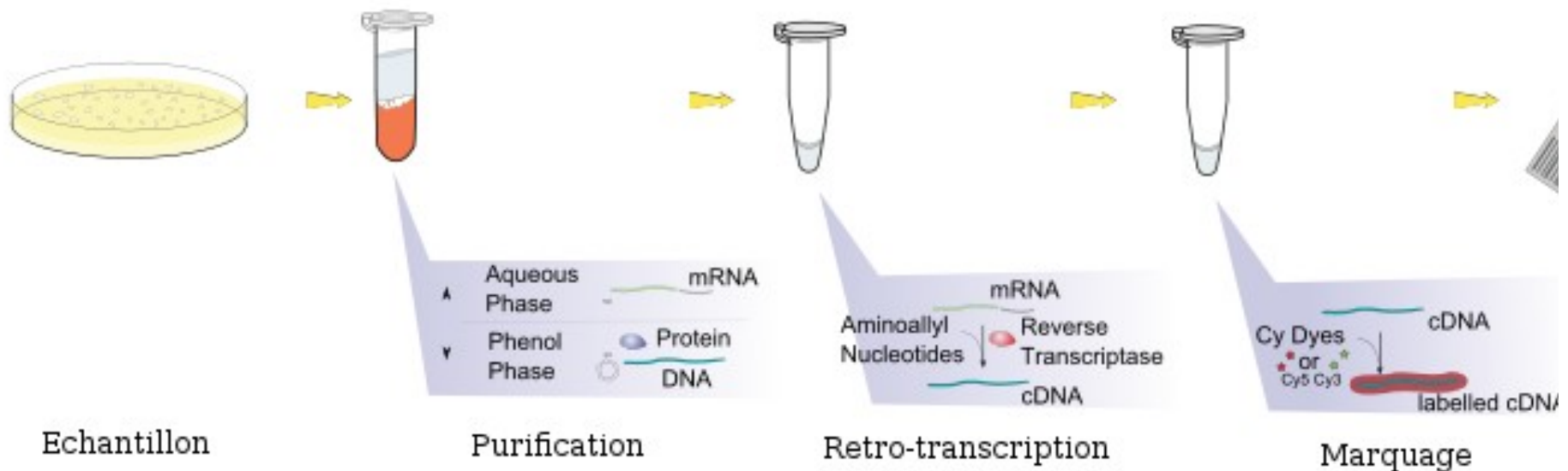
1.) variabilité en fonction de la spécialisation des cellules[TP07 partie 2]

spécialisation des cellules passent par une expression différentielle ce qui entraîne un patrimoine enzymatique variable.

→ **régulation de la transcription** de l'ADN au niveau des promoteurs est donc la clef de **différenciation des métabolismes cellulaires.**

II- Variabilité du fonctionnement des enzymes.

visualiser les spécialisations cellulaires grâce aux DNA microARRAY(ou puce à ADN).



II- Variabilité du fonctionnement des enzymes.

visualiser les spécialisations cellulaires grâce aux DNA microARRAY(ou puce à ADN).

Puce avec sondes à ADN

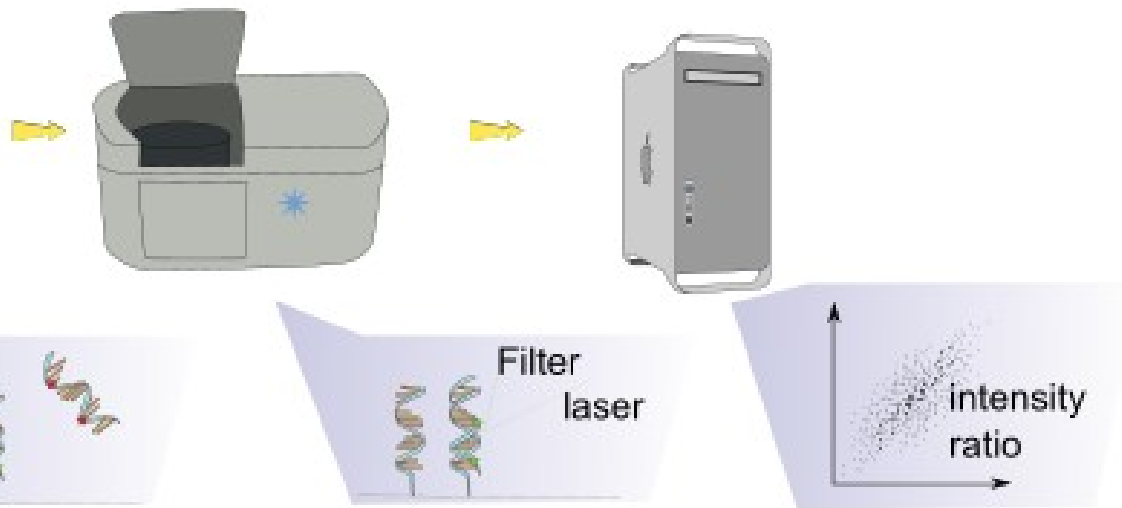
disposées selon un plan précis

DNA

Hybridation et lavage

Scanner de fluorescence

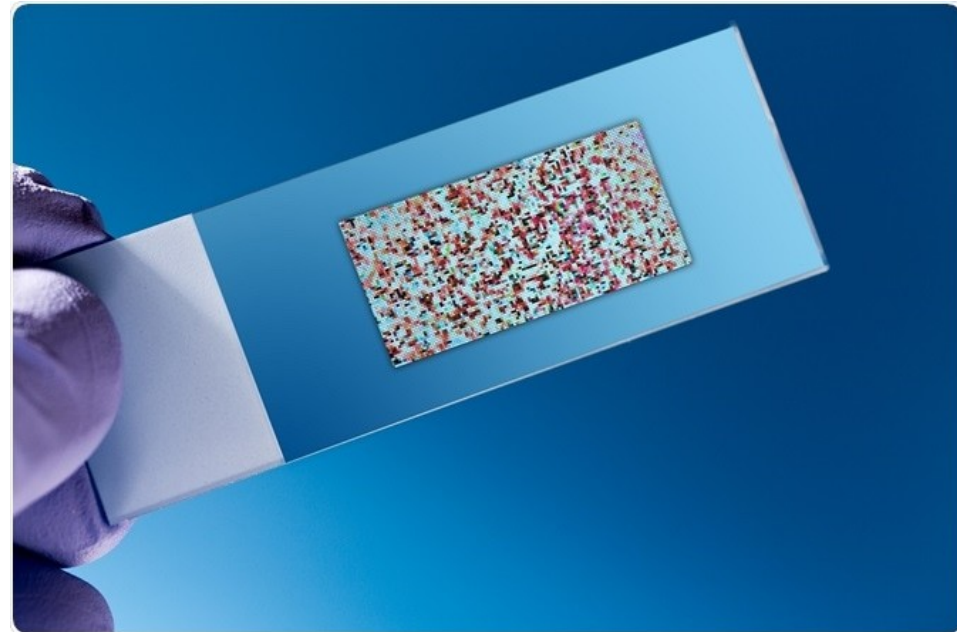
Normalisation et analyse



II- Variabilité du fonctionnement des enzymes.

visualiser les spécialisations cellulaires grâce aux DNA microARRAY(ou puce à ADN).

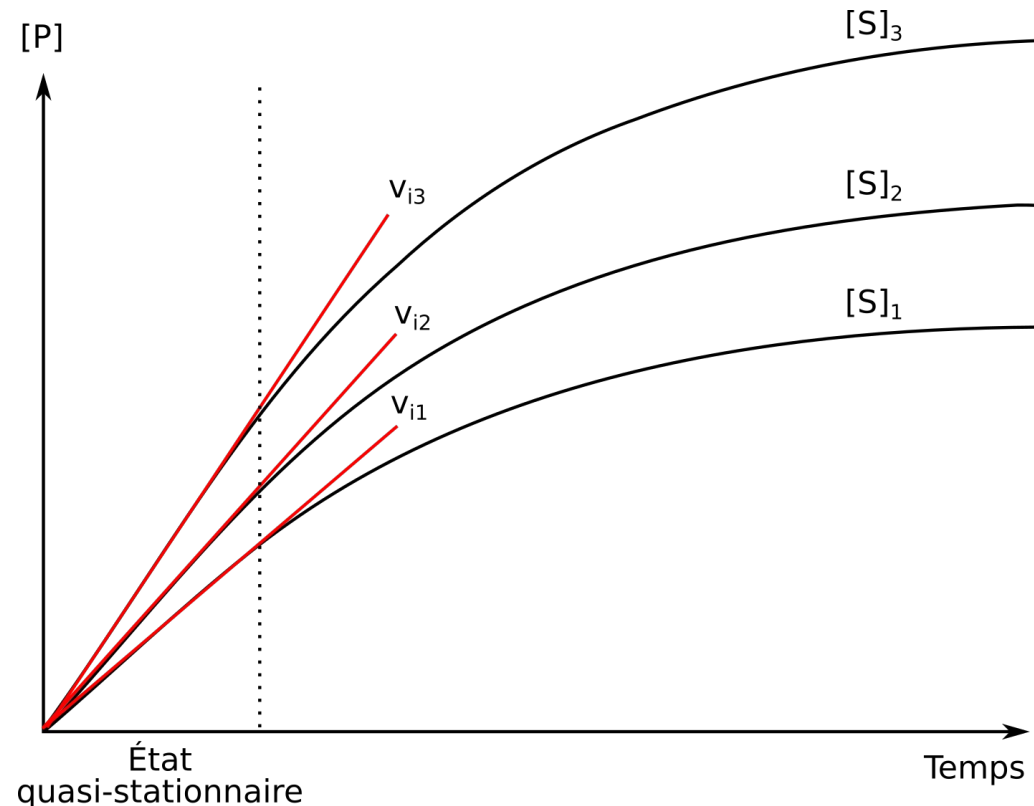
On obtient la liste des ARN qui étaient présents dans la cellule, donc la des enzymes exprimées et potentiellement actives dans cette cellule...



II- Variabilité du fonctionnement des enzymes.

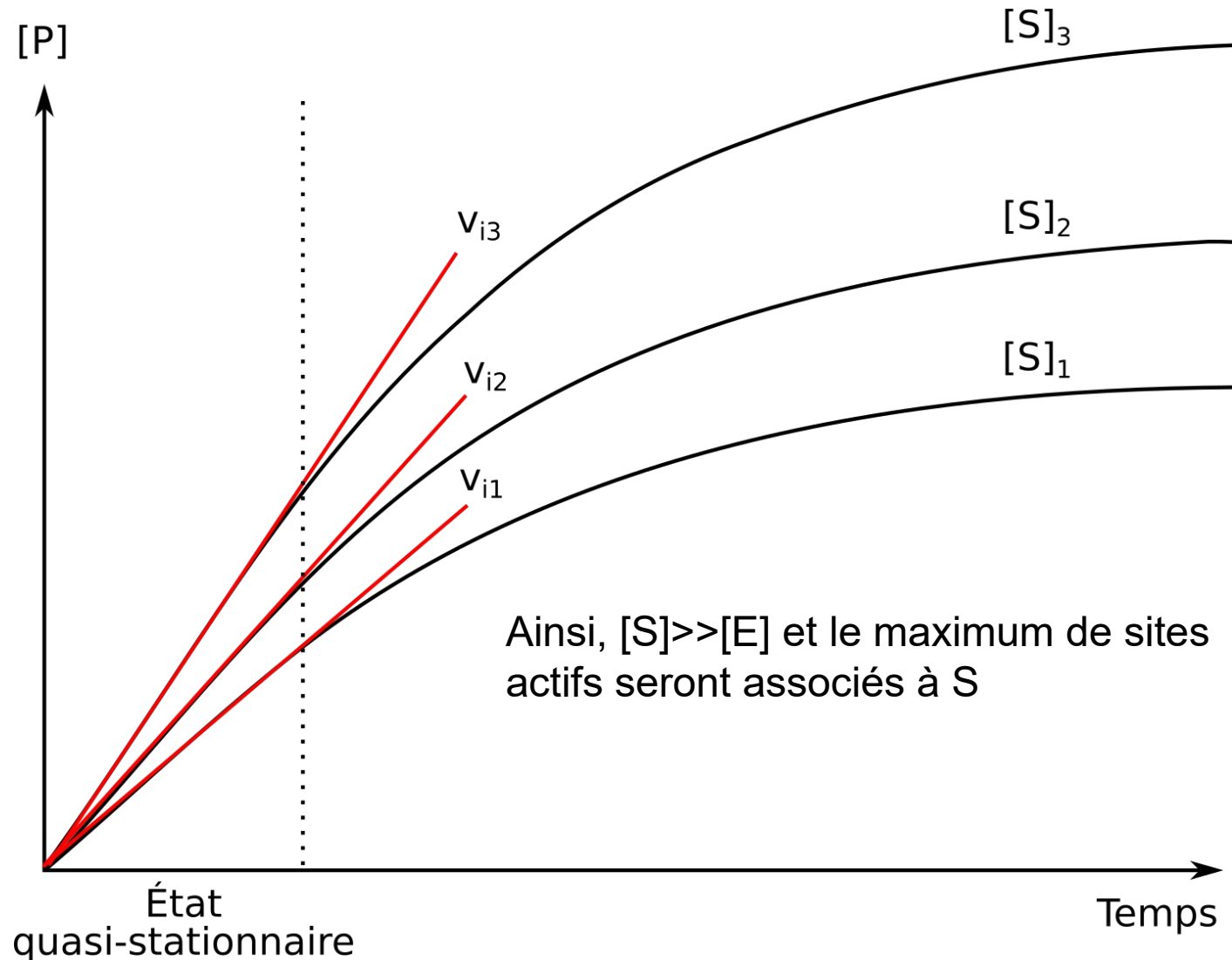
2- variabilité en fonction de certaines conditions du milieu de réaction.[TP08 partie 1]

Toute enzyme possède des optimums de fonctionnement dépendant des facteurs pH, température et concentration en substrat, présence ou absence d'inhibiteur.



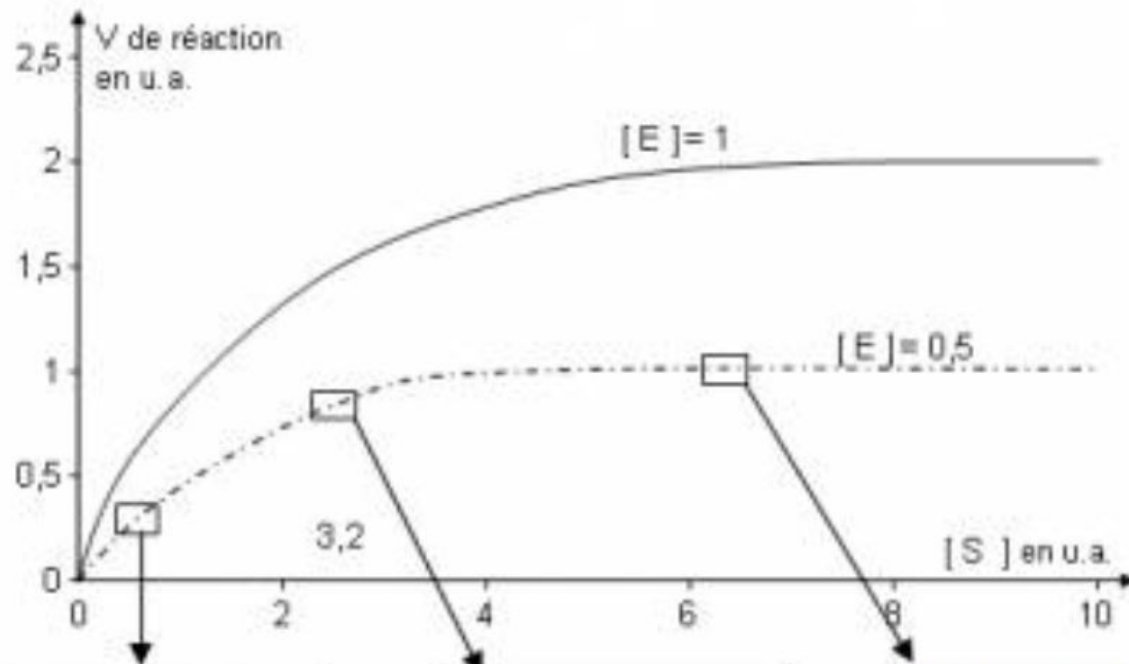
2- variabilité en fonction de certaines conditions du milieu de réaction.[TP08 partie 1]

L'évaluation de la vitesse de la réaction enzymatique est donc calculée via la pente moyenne au début de la réaction, avant que la concentration de S ne diminue trop

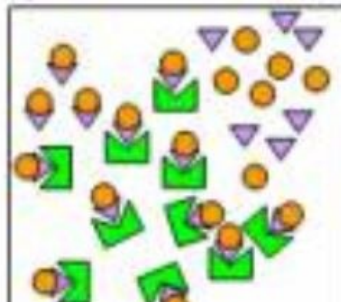
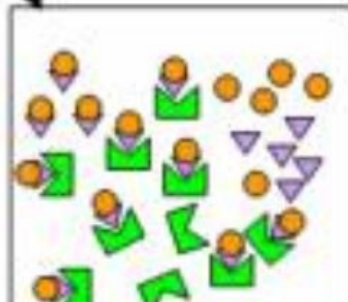
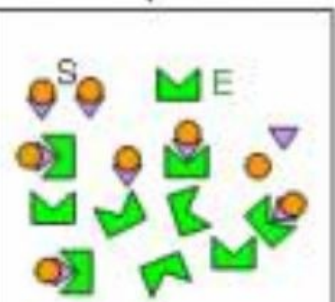


2- variabilité en fonction de certaines conditions du milieu de réaction.[TP08 partie 1]

Le fonctionnement de l'enzyme dépend donc ici de la concentration en Substrat : Plus le substrat est abondant, plus la vitesse augmente.



- Enzyme
- substrat
- produit

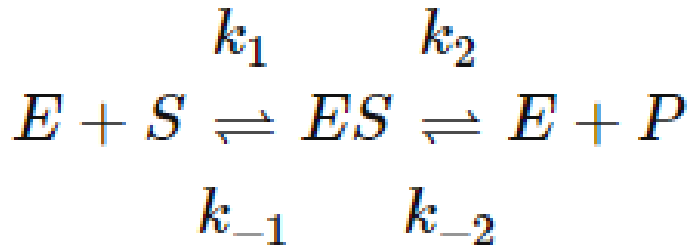


Petite digression en dehors du programme : k₁, k₋₁, k₂ et k₋₂ sont les constantes de vitesse des différents actes élémentaires tel que :

Tout ça pour une enzyme particulière...

$$d[ES]/dt = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] + k_{-2}[E][P]$$

$$\text{ou } d[P]/dt = k_2[ES] - k_{-2}[E][P]$$



avec

Michaelis et Mentel démontrent en 1913 que, dans des conditions de réaction précoce et avec [S] >> [E] :

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}$$

Et posent : $K_M = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}$.

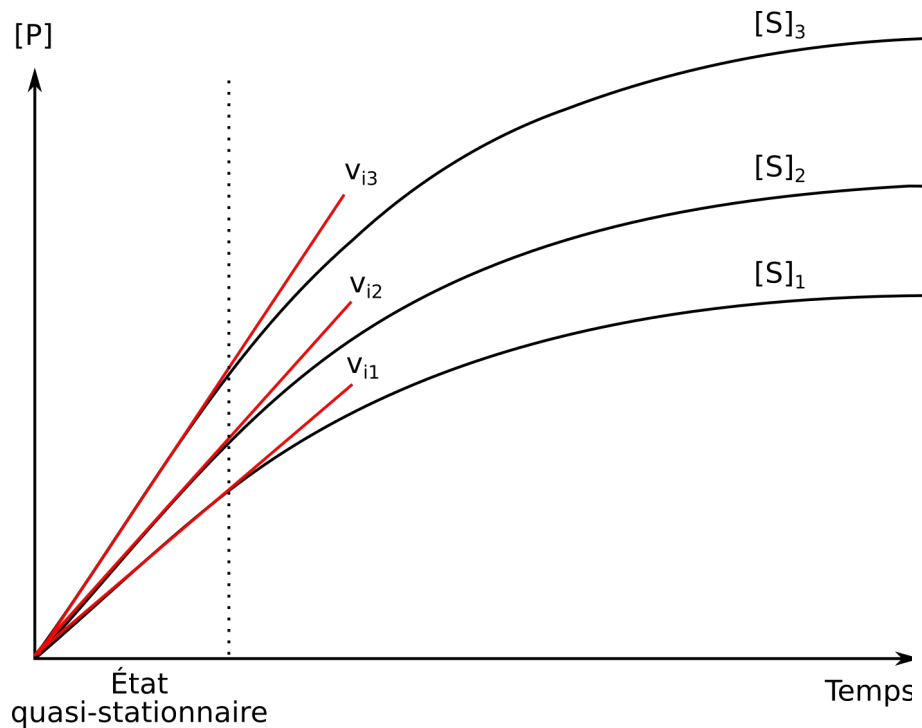
début de réaction, la vitesse de réaction est quasi-constante et égale à la vitesse initiale, notée v_i. En fin de réaction, la vitesse tend vers zéro.

$$v = \frac{d[P]}{dt}$$

Ils en déduisent que :

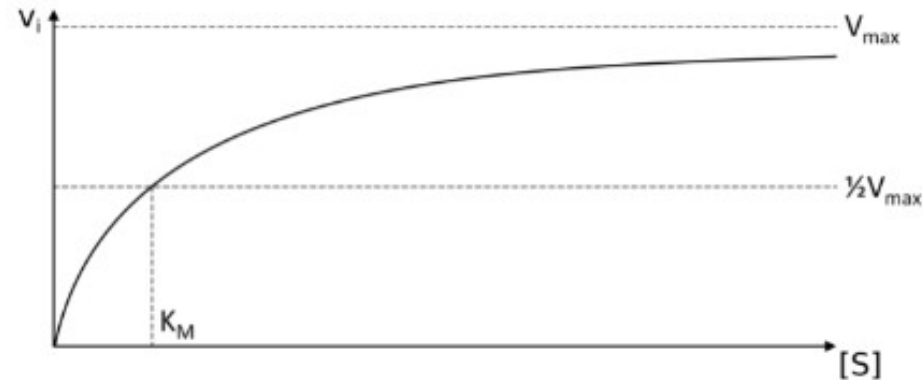
$$v_i = \frac{v_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

Petite digression en dehors du programme :



Grâce à de nombreuses mesures de v_i en fonction de $[S]$ différentes. On peut tracer la courbe de relation v_i en fonction de $[S]$

Tout ça pour une enzyme particulière...



or
$$v_i = \frac{v_{max}[S]}{K_M + [S]}$$
 donc pour $v_i = v_{max}/2$, $K_M = [S]$

On peut donc déterminer V_{max} graphiquement (asymptote) et en déduire K_M

On pourra ensuite déterminer v_i en fonction de toute $[S]$ pour cette réaction.

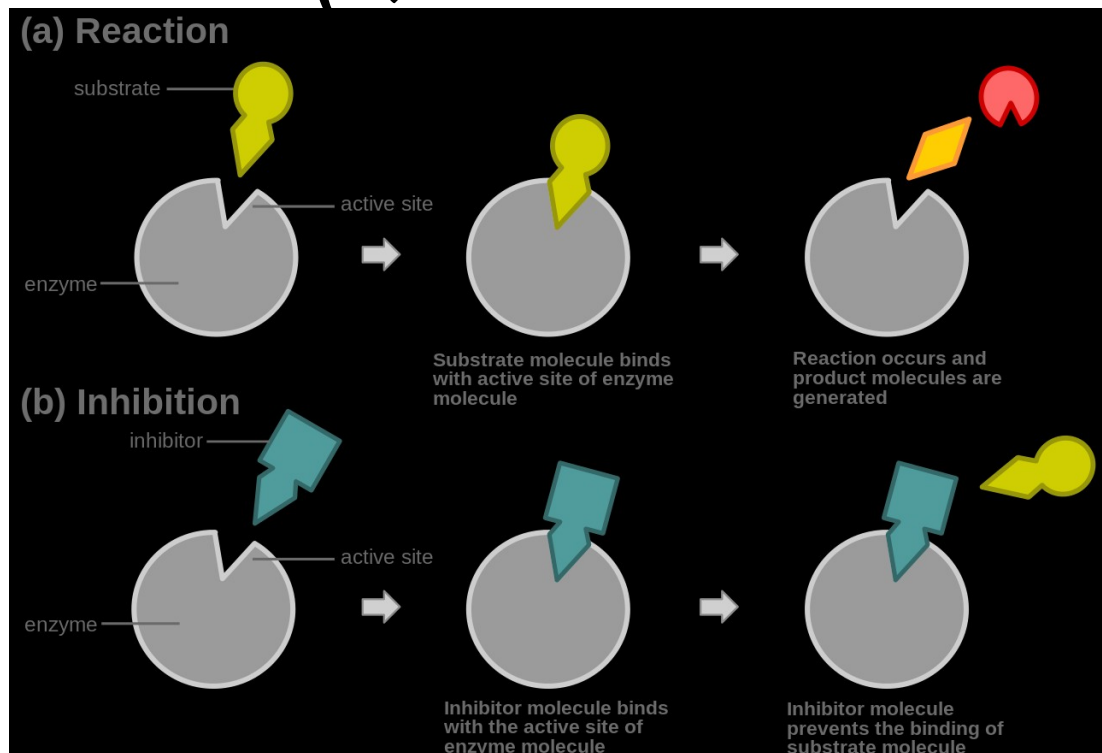
2- variabilité en fonction de certaines conditions du milieu de réaction.[TP08 partie 1]

Le fonctionnement de l'enzyme dépend donc ici de la concentration en Substrat : Plus le substrat est abondant, plus la vitesse augmente. On peut faire de même avec de nombreux facteurs et de nombreuses enzymes :

- Une **modification du pH** entraîne une **modification des interactions moléculaires** et donc éventuellement de la structure 3D des produits.
- La **t°** a le même effet, mais comme pour toutes les protéines, si la t° est trop élevée, la réaction est irréversible car l'enzyme est dénaturée. Ce qui n'est pas le cas des t° basses qui inactivent seulement l'enzyme.

2- variabilité en fonction de certaines conditions du milieu de réaction.[TP08 partie 1]

Les **inhibiteurs** ont des structures spatiales qui leur permettent de se fixer à l'enzyme. Ce sont donc des substances capables de **modifier l'activité de l'enzyme/**
- par compétition avec le substrat (-> inhibition compétitive)



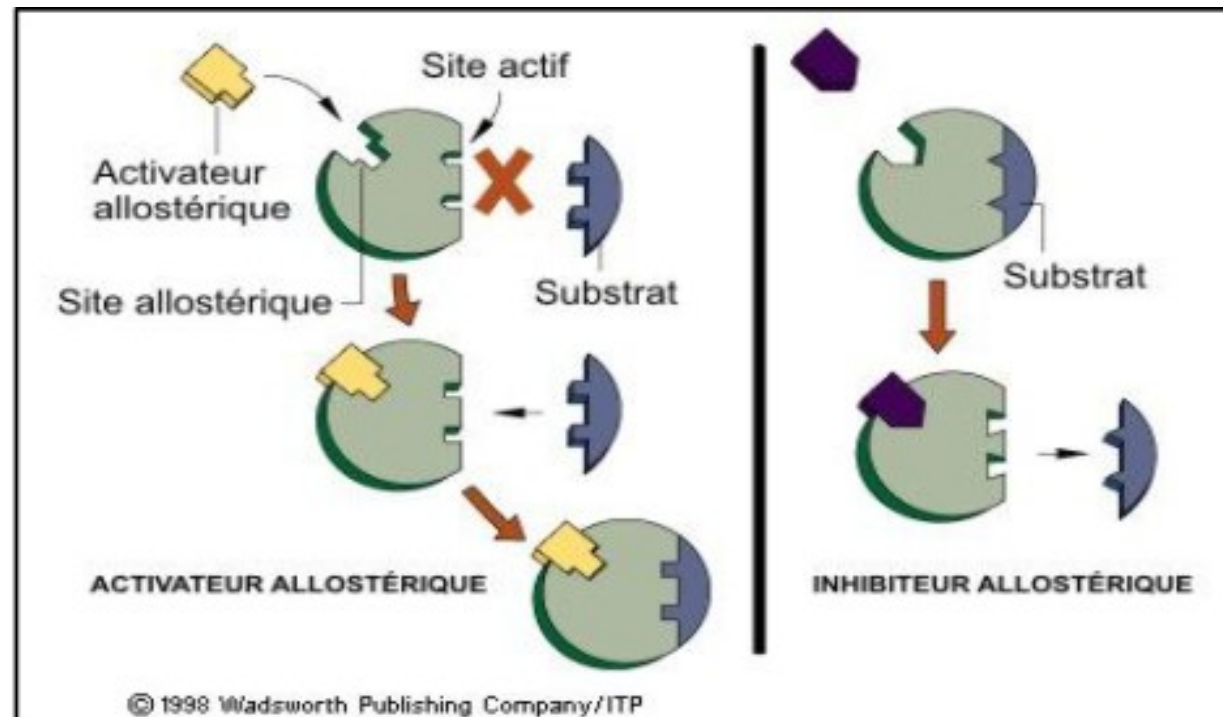
2- variabilité en fonction de certaines conditions du milieu de réaction.[TP08 partie 1]

Les **inhibiteurs** ont des structures spatiales qui leur permettent de se fixer à l'enzyme. Ce sont donc des substances capables de **modifier l'activité de l'enzyme/**

- **par compétition avec le substrat (-> inhibition**

compétitive)

- par modification de la structure de l'enzyme ce qui modifie le site actif (fixation et/ou catalytique) (-> inhibition allostérique (HP))

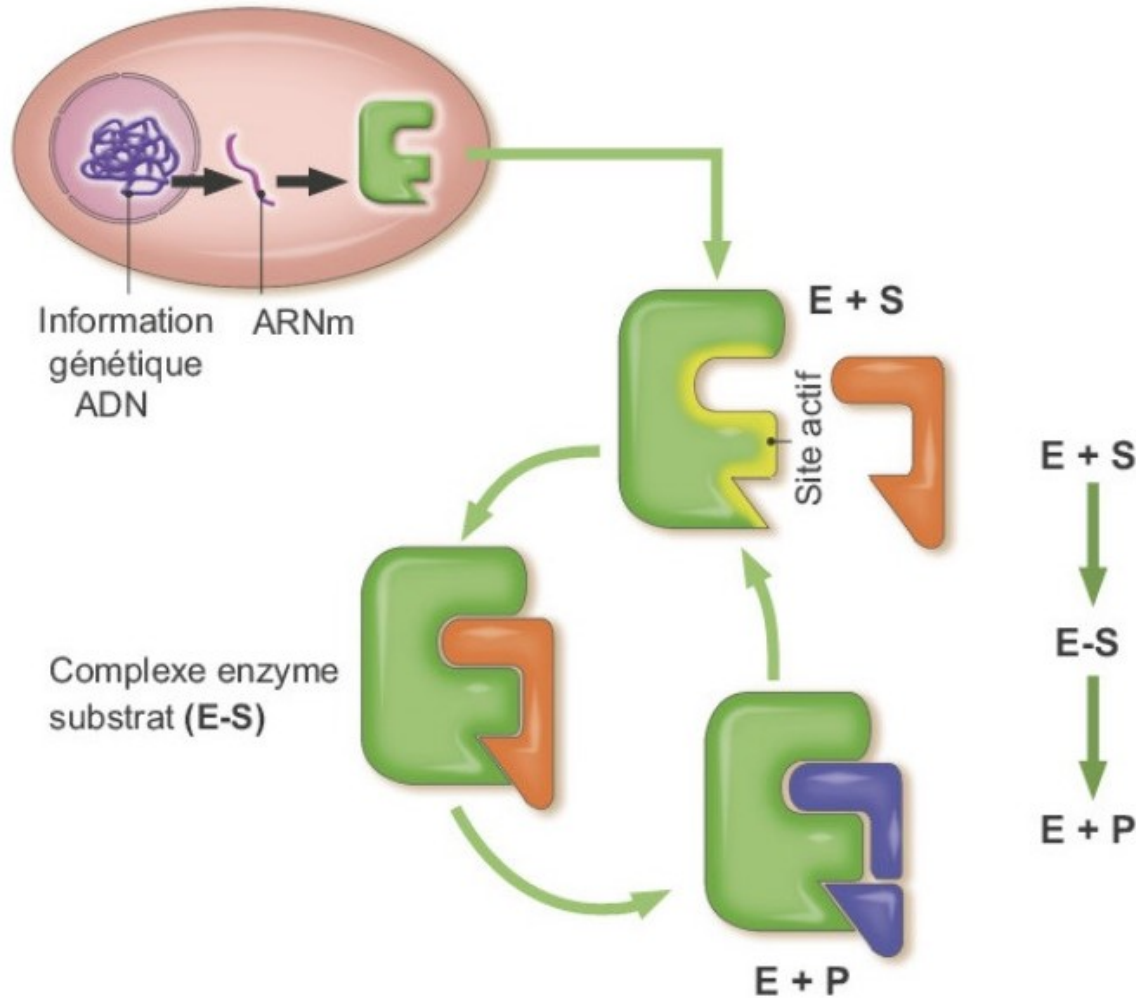


3- variabilité entre individus.

Les enzymes, qui sont des protéines, résultent de l'expression du patrimoine génétique; une mutation peut donc entraîner une conformation différente de la protéine et peut être à l'origine du non-fonctionnement(ou mal fonctionnement) de l'enzyme et par conséquent une maladie dite génétique (comme le xeroderma pigmentosum)

Une **mutation** peut avoir lieu sur une **partie codante**(Xeroderma) d'un gène mais aussi avoir lieu au niveau du **site régulateur**

Enzymes = biomolécules aux propriétés catalytiques



- **Catalyseur biologique**
→ Accélération de la réaction
- **Spécificité de substrat**
→ Forme 3D complémentaire du substrat
- **Spécificité de réaction catalytique**
→ Interaction chimique particulière entre enzyme et substrat
- **Spécificité des conditions d'action**
→ Protéine sensible au pH et à la température

E = enzyme
S = substrat
P = Produit