

Catalyse et catalyse enzymatique

Transformation chimique est la fonction **spécifique** des **enzymes**. Les enzymes sont des **protéines** qui **catalysent** la transformation de substrat en produit.

Quelques enzymes :

- **Chymotrypsine** : hydrolyse des peptides alimentaires
- **Trypsine** : hydrolyse des peptides alimentaires
- **Protéine-kinase** : phosphorylation des protéines
- **ATPases** : hydrolyse de l'ATP (sur la myosine)

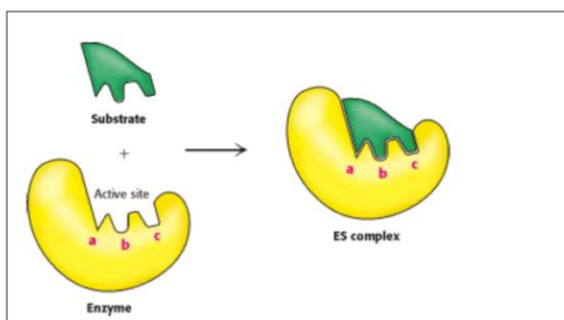
	Classe	Action	$S \rightarrow P$
1	Oxydo-réductases	Transfert d'électrons	$A^- + B \rightleftharpoons A + B^-$
2	Transférases	Transfert de groupes chimiques	$A-B + C \rightleftharpoons A + B-C$
3	Hydrolases	Réaction d'hydrolyse : transfert de groupes fonctionnels à l'eau	$A-B + H_2O \rightleftharpoons A-H + B-OH$
4	Lyases	Addition de groupes sur double liaison ou formation de double liaison par soustraction de groupe	$\begin{array}{c} X \quad Y \\ \quad \\ A-B \end{array} \rightleftharpoons A=B + X-Y$
5	Isomérases	Transfert de groupes à l'intérieur d'une molécule pour former un isomère	$\begin{array}{c} X \quad Y \quad \quad Y \quad X \\ \quad \quad \quad \quad \\ A-B \rightleftharpoons A-B \end{array}$
6	Ligases	Formation de liaison C-C, C-S, C-O ou C-N par réaction de condensation. Nécessite la fourniture d'énergie (ATP).	$A + B \rightleftharpoons A_5-B$

Spécificité :

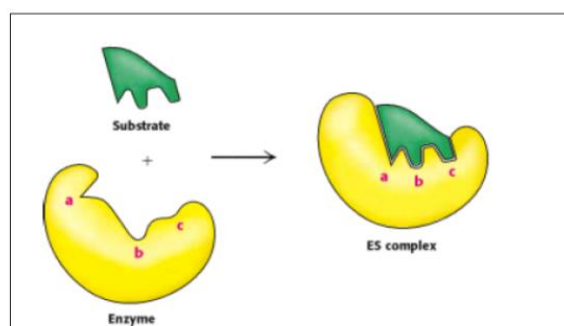
- **Trypsine** : après un résidu **lysine** ou **arginine**
- **Chymotrypsine** : après **phénylalanine**, **tyrosine**, **tryptophane**, **leucine** ou **méthionine**
- **bromure de cyanogène** après résidu de **méthionine**

Le **site actif** de l'enzyme, la partie de la protéine capable de reconnaître et de transformer le/les substrat(s).

Modèle de la serrure et de la clé



Modèle de l'adaptation induite pour l'interaction enzyme-substrat



Notion de cofacteur :

L'**activité catalytique** de nombreux enzymes dépend de la présence de **petites** molécules appelées « **cofacteurs** ».

2 groupes de cofacteurs :

- Métaux
- Coenzymes qui sont de petites molécules organiques

Des enzymes différents peuvent avoir le **même coenzyme** : ils ont alors des **mécanismes d'action catalytique semblable**.

Mécanismes généraux de la catalyse enzymatique

2 valeurs **caractérisent** cette réaction :

- Sa constante **d'équilibre**
- Sa constante de **vitesse**

La constante d'équilibre : $K'_{eq} = \frac{[P]}{[S]}$ avec $\Delta G'_0 = -RT \ln K'_{eq}$

La constante d'équilibre de la réaction est donc **directement** liée à la **variation d'énergie libre** standard entre S et P.

Elle indique le **sens** de la réaction **mais pas sa vitesse** :

- $\Delta G'_0 > 0$ dans le sens $P \rightarrow S$
- $\Delta G'_0 < 0$ dans le sens $S \rightarrow P$

Vitesse de la réaction : $v = k[S]$ avec k la constante de vitesse $k = \frac{k_b T}{h} * e^{-\Delta G^*/RT}$

Un **catalyseur** permet de **diminuer l'énergie d'activation**. Il agit **exclusivement** sur la **vitesse** et **pas sur l'équilibre** d'une réaction. Le **mécanisme général** par lequel les enzymes **diminuent** l'énergie d'activation réside dans la **modification temporaire des liaisons** du substrat avec l'enzyme. Ces interactions génèrent une **énergie de liaison** $\Delta G'_B$ qui est la **principale** source d'énergie libre qui **abaisse** l'énergie d'activation.

- k_b : la constante de Boltzman
- h : la constante de Planck
- ΔG^* : énergie d'activation (plus elle est élevée, plus la constante de vitesse est basse)

- Dans une réaction enzymatique, la **constante d'équilibre** de la réaction $S \rightarrow P$ est **inchangée**
- Le **catalyseur** est retrouvé **inchangé** en fin de réaction
- Le **facteur d'augmentation** de la vitesse par les enzymes est **considérable**
- Ce sont des **liaisons** qui sont responsables de la **haute spécificité** des enzymes

Mécanismes permettant d'abaisser l'énergie d'activation :

- Catalyse par effet de proximité : les enzymes rapprochent les réactifs et favorisent donc leurs interactions
- Catalyse générale acide-base : il s'agit en général d'échange de protons entre le substrat ou un intermédiaire et des résidus de l'enzyme
- Catalyse covalente : site actif contient un groupe réactif qui est temporairement modifié par covalence au cours de la catalyse
- Catalyse par des ions métalliques : dans certaines réactions, des ions métalliques servent de catalyseurs

Mécanisme enzymatique : sérine-protéases

Chymotrypsine appartient à la superfamille des **sérine-protéases**, comme la trypsine, l'élastase...

Ces enzymes catalysent une **réaction d'hydrolyse de la liaison peptidique** => **endopeptidases**

Repliement de la protéine **génère un site actif** dans lequel **3 aa particuliers** vont jouer un rôle majeur : **His 57, Asp 102, Ser 195**. Ils forment la **triade catalytique**.

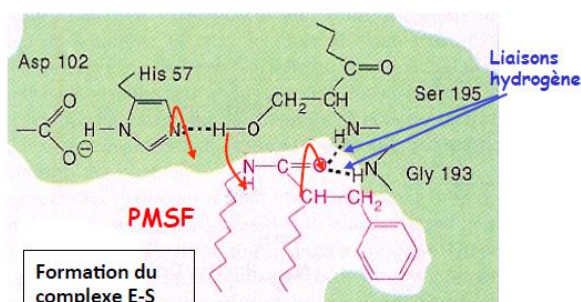
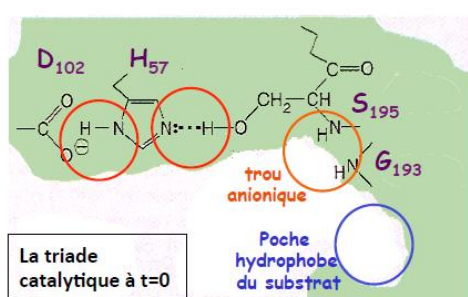
La **liaison du substrat** dépend d'interactions **non spécifiques** et **spécifiques**. Les premières amènent les enzymes protéolytiques dans l'environnement des chaînes polypeptidiques.

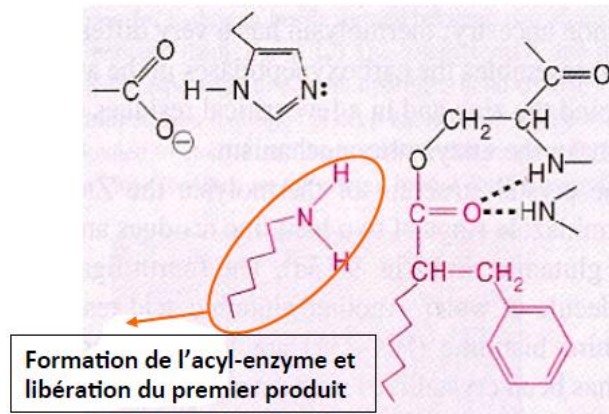
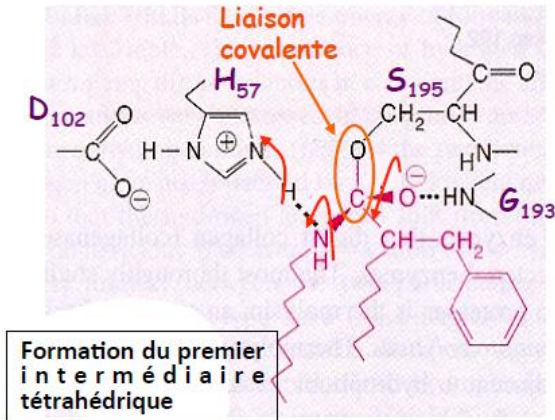
La **spécificité** de l'enzyme dépend de **quelques résidus** :

- **Chymotrypsine** est spécifique des résidus **aromatiques** ou **hydrophobes**
- **Trypsine** est spécifique des résidus **basiques** : lysine, arginine

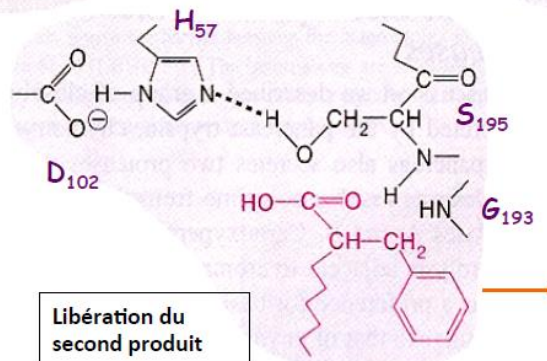
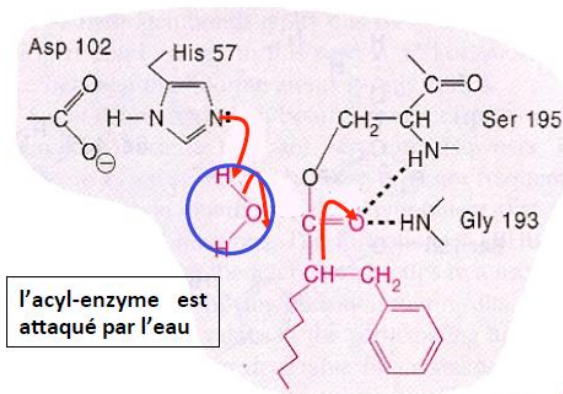
Hydrolyse du substrat est réalisée en **2 étapes** : **acylation** puis **désacylation** de l'enzyme

→ L'acylation





→ La désacylation



- Formation du **complexe E-S**
 - Interactions non-spécifiques : protéases-chaine polypeptidique
 - Interaction spécifique d'un enzyme protéolytique
- Formation de **2 intermédiaires successifs** par création de liaisons **covalentes** dans les 2 cas avec la **fonction OH d'une sérine**
- Libération **séquentielle** des **2 produits** de la réaction, les 2 fragments de chaine polypeptidiques
- Enzyme retrouvée **non modifiée** à la **fin** de la réaction

Modélisation des réactions enzymatiques : cinétique enzymatique

Les réactions enzymatiques sont **quantifiables** et **analysables** : étude de la **cinétique enzymatique**.

Facteurs affectant la réaction enzymatique :

- Ceux **contenus** dans la relation :
- Ceux liés à l'**environnement** de la réaction : pH, température, ions, coenzymes

Critère majeur pour **mesurer** la catalyse enzymatique : **vitesse de réaction** $v = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$

Elle **change** au cours du temps parce que les **concentrations** de S et P **changent**. En cinétique enzymatique on utilise la **vitesse initiale** v_0 qui est la **tangente** à la courbe $[P]=f(t)$

→ Influence de la **concentration en enzyme** : v_0 varie **linéairement** avec $[E]$

- Influence du **pH** : modifications du pH **modifient l'état d'ionisation** des résidus chargés. Cette dépendance est **spécifique** à chaque enzyme
- Influence de la **température** : augmentation de T **dénature** l'enzyme et le rend **inactif**. Cette température d'inactivation est **spécifique** de chaque enzyme.
- Influence de la **concentration en substrat** : **équation de Michaelis-Menten** $v_0 = v_{max} \frac{[S]}{K_M + [S]}$

La courbe de l'équation indique :

- * Que la réaction enzymatique suit une **hyperbole**
- * Que la réaction enzymatique est **saturable** (V_{max})
- * Qu'il existe une **valeur particulière** $V_{max}/2$ permettant de mesurer K_M

K_{cat} , constante catalytique : $k_{cat} = \frac{V_{max}}{[E_T]}$ elle traduit

directement l'efficacité de l'enzyme, s'exprime en s^{-1} . Plus elle est **grande**, plus l'enzyme fonctionne **rapidement**.

Rapport k_{cat}/K_M combine les informations relatives à la **spécificité** et à l'**efficacité** de l'enzyme. Il décrit la

« **perfection cinétique** ». Les enzymes les plus parfaits ont des **rapports** de l'ordre de 10^8 à $10^9 M^{-1}.s^{-1}$

Double réciproque de l'équation de **Lineweaver et Burk** :

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{v_{max}[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

K_M = constante **fondamentale** pour les enzymes. Généralement elle mesure l'**affinité** de l'enzyme pour son substrat
Plus K_M est **petit** et plus affinité est **grande**. Valeurs courantes de K_M varient entre 10^{-1} et $10^{-7} M$.

Contrôle de l'activité des enzymes

Elle peut être contrôlée par :

- La **concentration** et la **localisation** des enzymes :
 - Rôle de la biosynthèse et de la dégradation des enzymes
 - Rôle du trafic intracellulaire des enzymes
- Leur **environnement** :
 - Rôle du pH, des ions, des coenzymes, des vitamines, d'inhibiteurs
 - Rôle de la concentration en substrat : inhibition par excès de substrat
- Par **protéolyse ménagée**
- Par **modification covalente réversible** :
 - Phosphorylation
 - Formation ou rupture de ponts disulfure
- Par **régulation allostérique**
- **Autres modes** de **contrôle** peuvent être associés

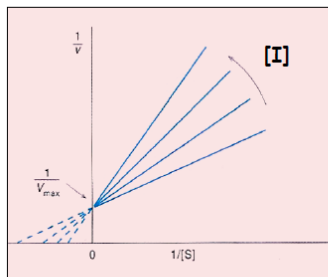
Influence des inhibiteurs

Inhibiteurs sont de nature très **diverses**, **interférant** avec une étape de la **catalyse**.

2 grandes classes d'inhibiteurs :

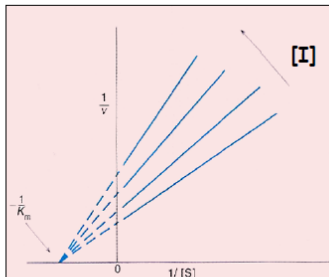
- **Inhibiteurs irréversibles**
- **Inhibiteurs réversibles** : compétitifs ou non compétitifs

Inhibiteur **compétitif**

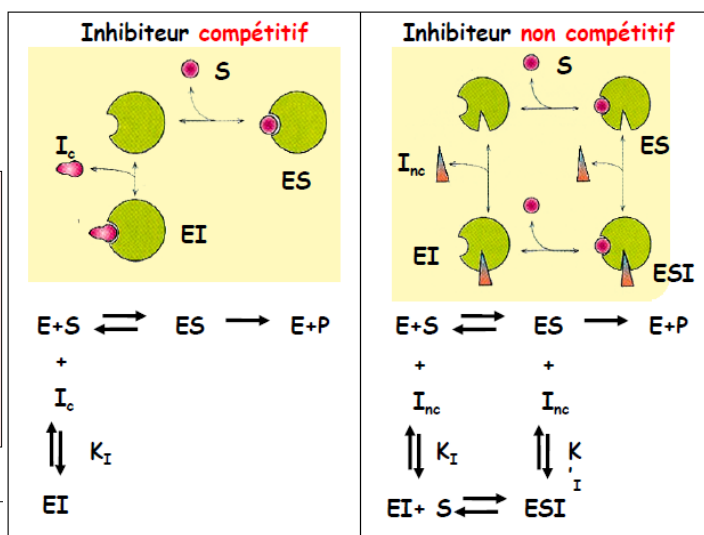


C'est le K_M qui est modifié

Inhibiteur **non compétitif**



C'est le V_{max} qui est modifié



Contrôle par protéolyse aménagée

Protéolyse aménagée est un **mode d'activation** courant des enzymes surtout les **enzymes digestives** et les **enzymes** de la **coagulation** du sang. On appelle **zymogène**, le **précurseur inactif** d'une enzyme activée par **protéolyse** dont il existe **plusieurs modalités** d'activation.

Contrôle de l'activité enzymatique par modification covalente réversible

Parmi **modifications covalentes** possibles : **phosphorylation** est l'une des plus fréquentes. Elle permet **temporairement** soit l'**activation** soit l'**inhibition** de l'enzyme, le plus souvent en réponse à un signal **extracellulaire**.

Phosphorylation se produit sur un résidu **sérine**, **thréonine** ou **tyrosine**, mettant en jeu des **kinases** (addition de phosphate) ou des **phosphatases** (suppression de phosphate)

Enzymes allostériques

Enzymes allostériques permettent une **réponse rapide** et **fine** aux variations des conditions **intracellulaires**.

Elles présentent généralement **plusieurs sous-unités**

La **fixation d'un modulateur allostérique** modifie la **conformation** de l'enzyme. Il existe donc une **coopérativité** du modulateur et/ou du substrat.

Il y a généralement **au moins un site de fixation pour le substrat** et **au moins un site de fixation pour un modulateur**

Souvent les enzymes allostériques se placent à une **étape clé** d'une chaîne métabolique

Comme l'Hb, l'**aspartate transcarbamoylase (ATCase)** présente **2 états extrêmes**, un **R** et un **T** et un grand nombre d'états **intermédiaires**.

L'état **précis** de l'enzyme dépend des rapports de **concentrations** des **substrats**, de l'**ATP** et du **CTP**.

Etat R

Défavorable à la catalyse
Stabilisé par le CTP

Etat T

Favorable à la catalyse
Stabilisé par l'ATP ou les substrats

Fixation sur une **sous-unité régulatrice** d'un modulateur **positif** écarte les **sous-unités catalytiques** en les faisant **pivoter**. Ce changement conformationnel les rend plus **actives**. La fixation d'un modulateur **négatif** a l'effet **inverse**.

La cinétique des enzymes allostériques **ne suit plus l'équation de Michaelis-Menden**.

La courbe de la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat est une **sigmoïde**. Elle est **semblable à celle de la fixation de O₂ sur Hb**.

Elle traduit la **coopérativité**.

Courbe en présence d'activateur

Courbe correspondant à l'état R

Courbe sigmoïde Classique d'une enzyme allostérique

