

LES ENZYMES

Le mot "enzyme" a été inventé en 1876 par le professeur Willy Kühne de l'université de Heidelberg (à qui nous devons aussi les noms de la myosine et de la trypsine). Le mot vient du grec "**en zume**", et signifie, de façon assez appropriée, "**dans la levure**".

Une **enzyme** est une molécule (protéine ou ARN dans le cas des ribozymes) permettant d'abaisser l'énergie d'activation d'une réaction et d'accélérer jusqu'à des millions de fois les réactions chimiques du métabolisme se déroulant dans le milieu cellulaire ou extracellulaire sans modifier l'équilibre formé (à titre d'exemple, une réaction qui met une seconde en présence d'une enzyme mettrait 12 jours en son absence). Les enzymes agissent à faible concentration et elles se retrouvent intactes en fin de réaction : ce sont des catalyseurs biologiques (ou biocatalyseurs). La première enzyme fut découverte par Anselme Payen et Jean-François Persoz en 1833. Après avoir traité un extrait aqueux de malt à l'éthanol, ils ont précipité une substance sensible à la chaleur. Cette substance était capable d'hydrolyser l'amidon : ils l'ont nommée diastase (étym. : diastasis = séparation) car elle séparait le sucre soluble de l'amidon. On l'appelle aussi *α -amylase* (*alpha-amylase*).

1. Nomenclature des enzymes

Étant déjà familiers avec plusieurs enzymes, vous aurez remarqué que le nom de la plupart d'entre eux se termine par le suffixe "-ase" et que le reste du nom nous donne une idée générale de ce que fait cette enzyme et c'est très bien ainsi. De cette manière, nous avons une assez bonne idée de ce que va faire une **DNA polymérase** même si nous n'avons jamais travaillé avec ou même lu quoi que ce soit à son sujet.

Des noms comme **polymérase, phosphatase, kinase** etc. sont cependant des noms **familiers**, ou **usuels**, et non des noms **systématiques**. La nomenclature officielle des enzymes, a été établie par la Commission des Enzymes (**EC**), un organisme tributaire de l'union Internationale de Biochimie et de Biochimie Moléculaire (**IUBMB**). Cette nomenclature officielle nous permet d'avoir une référence unique à l'échelle mondiale pour la désignation des enzymes.

Là où la nomenclature officielle diffère sensiblement de la nomenclature usuelle, c'est qu'elle désigne les enzymes en fonction des réactions qu'ils catalysent et non en fonction de la molécule qui possède l'activité enzymatique.

Le code qui permet de désigner un enzyme de façon systématique a la forme :

EC (chiffre de 1 à 6). (Chiffre). (Chiffre). (Chiffre) :

"**EC**" désigne la commission des enzymes. Le premier chiffre classe l'enzyme dans l'une des six classes d'enzymes:

1: **Les oxydoréductases**, qui catalysent des **transferts d'électrons**;

2: **Les transférases**, qui catalysent les **transferts de groupements**;

3: **Les hydrolases**, qui catalysent des **réactions d'hydrolyse**;

4: **Les lyases**, qui catalysent **l'addition de groupes** à des liens doubles ou l'inverse;

5: **Les isomérases**, qui catalysent le **transfert de groupes** dans une même molécule pour produire des formes isomères (la conversion d'un acide aminé L en acide aminé D' par exemple);

6: **Les ligases**, qui forment des liens **C-C**, **C-S**, **C-O** et **C-N** lors de réactions de condensation couplées à l'utilisation d'ATP.

Les autres chiffres désignent des sous-classes pour chaque enzyme ; Par exemple, l'enzyme **tripeptide aminopeptidase** a le code **EC 3.4.11.4** qui est construit comme suit : **3** signifie une **hydrolase** (enzymes qui utilisent l'eau pour détruire une autre molécule), **3.4** signifie hydrolases agissant sur des **liens peptidiques**, **3.4.11** implique celles qui détachent un **acide aminé amino-terminal** d'un polypeptide et **3.4.11.4** implique celles qui détachent cet acide aminé amino-terminal d'un **tripeptide**.

En toute honnêteté, on n'utilise pas très souvent le nom systématique d'un enzyme en biologie. Il est quand même bon de savoir que cette référence existe.

2. Quelques organismes parmi les très nombreux dont les enzymes nous facilitent la vie

Organisme	Enzymes utiles	Utilisation
<i>Hordeum</i> sp. (orge)	α-amylase β-amylase endo-1,3-β-D-glucanase	Dégradation de l'amidon permettant aux levures de faire fermenter la bière.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	oligosaccharidases diverses enzymes glycolytiques	Fermentation (bière, pain)
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	oligosaccharidases diverses enzymes glycolytiques	Fermentation à basse température (bière)
<i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Penicillium roqueforti</i>	enzymes lipolytiques	Dégradation partielle des lipides (yaourt, fromage)

3. Les groupes d'enzymes

Il existe deux grandes catégories d'enzymes :

- les enzymes purement **protéiques** (qui ne sont constituées que d'acides aminés), les « **holoenzymes** »
- les enzymes en deux parties, une partie protéique (« l'**apoenzyme** ») et une partie non-protéique (« le **cofacteur** »), appelées « **hétéroenzymes** » ou « **holoenzyme** ».

Un cofacteur peut être inorganique, tels que le sont les ions **Fe²⁺**, **Mn²⁺**, **Zn²⁺** ou **Mg²⁺**, cofacteurs fréquents. Il peut aussi être de nature organique, comme la **biotine** ou le **coenzyme A**. La plupart des vitamines sont des cofacteurs enzymatiques. Quand un cofacteur est une molécule organique complexe, il porte le nom de **coenzyme**.

Sans la coenzyme, la catalyse de la réaction ne peut avoir lieu.

Le cofacteur, qu'il soit petit comme un ion ou complexe comme un coenzyme, peut être attaché de façon transitoire à l'apoenzyme ou encore y être fixé de façon covalente; c'est alors un **groupement prosthétique**.

Finalement, un enzyme qui est synthétisé sous une forme inactive qui demande à être activée par protéolyse partielle est un *zymogène*.

Exemple : L'AminoAcyl transférase (enzyme fixant l'acide aminé sur l'ARN transfert) a besoin d'ATP (coenzyme) pour fixer l'acide aminé sur l'ARNt.

4. Structure et fonction des enzymes

Un enzyme est beaucoup plus volumineux que son substrat. Il semble qu'on ait besoin d'une architecture fort complexe pour permettre à quelques acides aminés de se trouver juste dans la position qu'il faut pour servir de catalyseur à une réaction. La structure de l'enzyme sera donc déterminante pour sa fonction.

Plusieurs facteurs entreront en ligne de compte pour le bon fonctionnement d'un enzyme. Comme la rencontre entre l'enzyme et son substrat dépend du **mouvement moléculaire**, l'activité d'un enzyme croîtra avec la **température** (puisque la température est le reflet du mouvement moléculaire). Cependant, cela ne sera plus vrai quand la température sera assez haute pour affecter la structure tertiaire de l'enzyme: il pourrait alors perdre rapidement son activité. Un enzyme dénaturé (c'est à dire qui a perdu sa structure tertiaire) ne peut pas fonctionner.

Le **pH** aura le même effet. L'état d'ionisation des différents acides aminés d'une protéine aura une grande influence sur sa structure, et indépendamment de la structure on doit aussi considérer l'état d'ionisation des acides aminés du site actif. Les enzymes auront par conséquent des pH optimaux différents, selon leur structure et la nature de leur site actif. **La pepsine** a un pH optimal de **1,5**, approprié pour un enzyme gastrique; la **trypsine intestinale** a plutôt un pH optimal de **7,7**.

La forme du site actif de l'enzyme va lui permettre de reconnaître un substrat particulier: **le substrat est la clef dont le site actif est la serrure**. Certains enzymes sont extrêmement spécifiques et ne fonctionneront que sur un seul et unique

substrat; d'autres ont un large spectre et fonctionnent sur une structure partagée par de nombreuses molécules qui peuvent toutes lui servir de substrat. Le site actif consiste d'au moins deux parties fonctionnelles, qui peuvent ou non être voisines sur la chaîne polypeptidique (si non, la structure tertiaire les amène près l'une de l'autre). Ce sont le site de reconnaissance du substrat et le site catalytique. Le premier permet à l'enzyme de reconnaître son substrat; le second de lui faire subir son traitement catalytique. La liaison du substrat implique souvent de nombreuses liaisons non-covalentes de type hydrophobique, des ponts hydrogènes, ou des interactions de van der Waals.

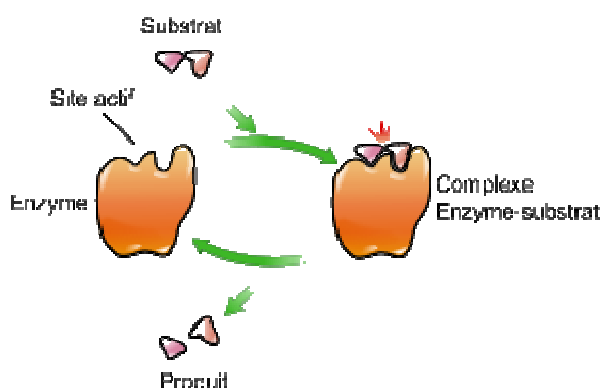
5. Action de l'enzyme

Enzyme + Substrat -----> Enzyme + Produit

La molécule (substrat) qui va être modifiée arrive sur l'enzyme. Une fois arrivée à proximité il se produit les phénomènes suivants :

- Le substrat se positionne dans la cavité
- L'enzyme le fixe
- La réaction se produit
- Le substrat transformé est relâché (produit).

De façon extrêmement simplifiée, voici le mécanisme d'action d'une enzyme.



6. Régulation de l'activité enzymatique

Pratiquement toutes les réactions chimiques dignes de mention dans la cellule sont catalysées par des enzymes. La cellule a donc besoin d'un système fiable de régulation pour gérer toute cette activité bourdonnante. Imaginez seulement une cellule dont tous les enzymes seraient en action en même temps. Ce serait comme une grande ville dont tous les feux de circulation seraient au vert.

Les systèmes de régulation sont nombreux; on pourrait les classer de différentes façons selon leur rôle, leur importance ou leur pertinence en biologie moléculaire. Nous allons faire un survol des aspects qui suivent, certains pouvant se recouper:

- (1) inhibition ou activation par des macromolécules;
- (2) disponibilité de cofacteurs;

- (3) rétroaction et allostérie;
- (4) inhibition compétitive, non-compétitive, et par le substrat;
- (5) modifications covalentes.

6.1. Régulation par des macromolécules

Il existe de nombreuses protéines dont le rôle est d'**inhiber** l'action de certains enzymes. Ces inhibiteurs peuvent agir sur l'activité enzymatique proprement dite, ou dissimuler son site actif, ou séquestrer l'enzyme dans une partie de la cellule où il ne peut pas tenir son rôle. À l'inverse, certaines interactions avec d'autres protéines vont permettre aux enzymes de se trouver là où leur activité peut avoir un rôle à jouer dans la régulation du métabolisme; qu'on pense seulement aux nombreux co-activateurs de la transcription qui possèdent une fonction acétyltransférase; ils n'ont pas beaucoup d'utilité tant qu'ils n'ont pas été recrutés au niveau de promoteurs de gènes particuliers.

6.2. Disponibilité de cofacteurs

Qu'il s'agisse de coenzymes, de groupements prosthétiques ou de simples ions, les cofacteurs sont nécessaires à tous les apoenzymes. La cellule a beaucoup recours à l'échange de cofacteurs, permettant d'activer ou d'inactiver rapidement un enzyme selon le cofacteur auquel il se lie.

La présence d'ions métalliques comme le Zn^{2+} , le Fe^{2+} , le Mn^{2+} , le Mg^{2+} est aussi très souvent primordiale pour la fonction enzymatique. C'est pourquoi les cellules ont des systèmes permettant à ces métaux de pénétrer le cytoplasme, malgré le risque qu'ils peuvent aussi lui faire courir (la plupart des métaux lourds sont rapidement mortels pour une cellule).

En purification protéique, l'une des plus élémentaires mesures de précaution pour protéger nos protéines des protéases est d'ajouter une certaine quantité de composé chélateur (EDTA, EGTA) aux tampons pour priver les protéases de leurs cofacteurs métalliques.

6.3. Rétroaction et allostérie

La rétroaction est l'action qu'a le produit d'une réaction sur cette dernière.

S'il s'agit d'une inhibition, nous parlons d'une **rétroaction négative**. Par exemple, la conversion de la thréonine en isoleucine est le fruit de l'activité de cinq enzymes en séquence, le premier étant la **thréonine déshydratase**. Le produit de cette conversion, l'**isoleucine**, est un inhibiteur de cet enzyme; ainsi, quand la réaction a donné le résultat attendu, la production d'isoleucine est arrêtée (n'utilisant pas plus de thréonine que nécessaire).

Le cas de la thréonine déshydratase est un bel exemple de régulation allostérique. Un **enzyme allostérique contient plus d'un site**: en plus de son site actif, il a un site régulateur (le nom allostérique vient d'ailleurs du grec **allos** (autre) et **stereos**

(espace ou site). La molécule qui vient se fixer au site régulateur est appelée **effecteur** ou **modulateur**. Tout comme le site catalytique de l'enzyme est spécifique pour son substrat, le site allostérique est spécifique pour son modulateur.

On peut bien entendu observer un effet allostérique positif. Le modulateur dans un tel cas va favoriser l'activité de l'enzyme au lieu de lui nuire. C'est ce qu'on observerait dans une boucle de rétroaction positive dans laquelle le produit d'une cascade enzymatique irait stimuler un ou plusieurs enzymes y étant impliqués.

Un enzyme allostérique qui est modulé par son propre substrat est dit **homotrophique**; s'il est modulé par une autre substance il est dit **hétérotrophique**.

6.4. Inhibition compétitive, non-compétitive, et par le substrat

La forme la plus extrême de l'inhibition de l'activité d'un enzyme par une autre substance (à part, peut-être, la destruction de l'enzyme!) est l'inhibition irréversible. Cette inhibition, le plus souvent causée par la formation d'un **lien covalent** entre l'enzyme et l'inhibiteur, cause la perte définitive de l'activité enzymatique de l'enzyme.

L'insecticide malathion, par exemple, est un inhibiteur irréversible de l'**acétylcholinestérase** des insectes. Il se lie de façon covalente au groupement hydroxyle de la sérine du site actif de l'enzyme, l'inactivant pour de bon. Le PMSF, un agent fréquemment utilisé dans la préparation des protéines, inhibe les sérine et cystéine protéase en sulfonylant leur site actif. Lui aussi est irréversible.

Un inhibiteur réversible, comme vous le devinez, permet à l'enzyme de retrouver son état normal quand l'inhibiteur est retiré. Un tel inhibiteur peut être compétitif, c'est à dire qu'il compétitionne avec le substrat pour le site actif, qu'il occupe de façon à perturber la réaction, ou non-compétitif, c'est à dire qu'il agit à un autre niveau. Un inhibiteur non-compétitif pourrait se lier à l'enzyme sur un autre site et interférer d'une manière ou d'une autre avec son activité, ou il pourrait avoir une action secondaire telle que la chélation d'un cofacteur essentiel à l'enzyme (ce que fait l'EDTA, un inhibiteur de protéase également fréquent).

Dans le cas d'une inhibition compétitive, le problème est que le site de l'enzyme est souvent occupé par un obstacle. La vitesse maximale de l'enzyme n'est cependant pas affectée, puisque l'enzyme, lui, fonctionne très bien: c'est l'accessibilité du substrat qui est mise en cause. À une concentration suffisamment élevée de substrat, la concentration de compétiteur deviendrait négligeable et la vitesse maximale serait atteinte. Cependant, plus il y a d'inhibiteur, plus il faut de substrat pour compenser; par conséquent, la concentration de substrat pour atteindre la moitié de la vitesse maximale est aussi plus élevée et le K_M augmente avec la concentration d'inhibiteur.

Dans le cas d'une inhibition non-compétitive, quelque chose empêche l'enzyme de fonctionner correctement, indépendamment du substrat. La concentration de substrat requise pour atteindre $1/2 V_{max}$ reste inchangée; c'est juste que le V_{max} de l'enzyme baisse proportionnellement à la concentration d'inhibiteur non-compétitif.

L'inhibition par le substrat se présente quand il existe deux sites dans un enzyme pour le même substrat, mais quand l'un des deux sites a une faible activité catalytique et une faible affinité. La vitesse de l'enzyme devrait croître quand on augmente la

quantité de substrat. Dans le cas qui nous occupe, cependant, il arrive un moment où la concentration de substrat est telle que même le site de faible affinité finit par avoir accès au substrat. Comme ce second site n'est pas très efficace, cependant, il peut nuire à l'action du premier sans lui-même compenser par sa propre activité. Quoiqu'un modèle intéressant, ce n'est pas un cas très courant.

6.5. Modifications covalentes

Nous avons vu comment un précurseur inactif peut être activé quand on lui fait subir une protéolyse limitée (exemple de la chymotrypsine).

D'autres modifications incluent le transfert de groupements chimiques. Il existe des systèmes de phosphorylation / déphosphorylation, méthylation / déméthylation, acétylation / déacétylation qui justement activent ou inactivent plusieurs enzymes.

Référence :

- Wikipédia
- Université de Sherbrooke