

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SU PERIEUR & DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI-BEL-ABBES



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

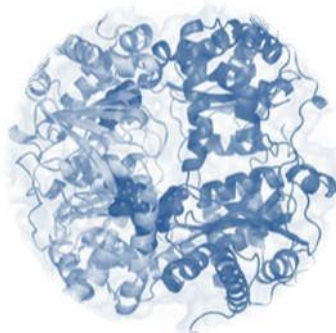
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Enzymologie approfondie

- Cours -

Pr. KHALED M.B

(Professeur, UDLSBA)



- Avant propos -

L'étude des mécanismes de la vie à l'échelle moléculaire représente un des volets les plus passionnants de la Science moderne. La description de ces mécanismes représente le domaine de l'enzymologie. Cette dernière connaît un développement considérable et nombreux sont ceux qui préfèrent et désirent en faire leur spécialité. La connaissance de cette science des enzymes est devenue indispensable au biologiste. Quelle que soit sa spécialité, il doit toujours avoir présents à l'esprit les mécanismes moléculaires fondamentaux de la vie pour comprendre les phénomènes biologiques complexes. Pour se familiariser avec les éléments de base de cette discipline, ce guide qui constitue une introduction à l'enzymologie générale apparaissait indispensable avec une simplification qui permettra à l'étudiant de mieux comprendre et d'assimiler les notions de base de l'enzymologie. Cet ouvrage devrait donner à ses lecteurs une vision synthétique de la cinétique Michaélienne, et la cinétique à plusieurs substrats, des enzymes allostériques ainsi que les éléments structuraux simples qui seront donnés dans le premier chapitre. Un chapitre traitera les bases de l'enzymologie et les facteurs qui modifient la réaction enzymatique. Ensuite nous terminerons par donner quelques perspectives sur le développement qui en découle. Puisse-t-il constituer pour l'étudiant en biologie un support théorique adapté à son niveau.

Pr. KHALED MB.

TABLE DES MATIERES

Avant-propos	1
Table des Matières	2
Introduction	5
PARTIE 1.	10
NOTIONS GENERALES SUR LES ENZYMES ET LA REACTION ENZYMATIQUE	
Chapitre 1	
Généralités sur les enzymes	7
1.1 Historique	7
1.2 Définition	8
1.3 La structure des enzymes	8
1.3.1 Rappel sur la structure des enzymes	8
1.3.2 Le site actif	10
1.4 Caractéristiques des enzymes	11
1.5 Classification des enzymes	12
1.5.1 Classification fonctionnelle	13
1.5.2 Classification officielle 1.5.3	13
Les six classes d'enzymes	15
- Oxydoréductases	15
- Transférases	17
- Hydrolases	18
- Lyases	20
- Isomérasés	21
- Ligases ou synthétases	22
1.5.4 Classification internationale des enzymes (Tableau)	23
Chapitre 2	
La réaction enzymatique	24
2.1 Quelques rappels utiles	24
2.2 Réaction enzymatique	26
2.3 Facteurs intervenant dans la réaction enzymatique	26
2.3.1 Enzyme	26
2.3.2 Cofacteurs	26
2.3.3 Ligand	27
2.3.4 Le cofacteur	27
2.3.5 Coenzyme	27

Partie 2. Cinétique enzymatique

Chapitre 3	
Effet de la concentration d'enzyme	31
3.1 Vitesse de la réaction	31
3.2 Phases de la réaction	31
3.3 Vitesse initiale	32
3.4 Concentration de l'enzyme	33
3.5 Passage à la forme active	33
3.6 Dosage enzymatique	34
Chapitre 4	
Effet de la concentration du substrat	35
4.1 Concentration du substrat	35
4.2 Cinétique enzymatique Michaélienne (Mono substrat et inhibition)	36
4.3 La vitesse maximum : V_{max}	37
4.4 La constante de Michaélis : K_m	37
4.5 Les constantes de la réaction	38
4.6 La phase stationnaire	38
4.7 Equation de la vitesse	39
4.8 Equation de conservation de l'enzyme	40
4.9 Constante de Michaélis	40
4.10 Equation de Michaélis & Menten	42
4.12 Hyperbole de Michaélis & Menten	43
4.13 Diagramme de Lineweaver & Burk	44
Chapitre 5	
Effet de la concentration des effecteurs	46
5.1 Définition	46
5.2 Les activateurs	47
5.3 Effet des inhibiteurs	47
5.3.1 Inhibiteurs compétitifs (Inhibition compétitive)	47
5.3.2 Inhibiteurs non compétitifs (Inhibition non compétitive)	51
5.3.3 Inhibiteurs incompétitifs (Inhibition incompétitive)	54
5.3.4 Inhibiteurs irréversibles	56
Conclusion	57
5.4 Aberration des cinétiques Michaéliennes	57
5.5 Cinétique par excès de substrat	57

Chapitre 6	60
Cinétique à plusieurs substrats	
6.1 Mécanisme bibi ordonné	60
6.2 Mécanisme bibi aléatoire	61
6.3 Mécanisme ping-pong	62
Partie 3	64
Effet des paramètres physiques sur les enzymes	
Chapitre 7	65
Effet du pH	
7.1 Dénaturation	65
7.2 pH optimum	66
Chapitre 8	68
Effet de la température	
8.1 Température optimum	68
8.2 Activation dénaturation	68
8.3 Relation d'Arrhenius	69
8.4 Energie d'activation	70
8.5 Réaction couplée	72

Introduction du Tome I

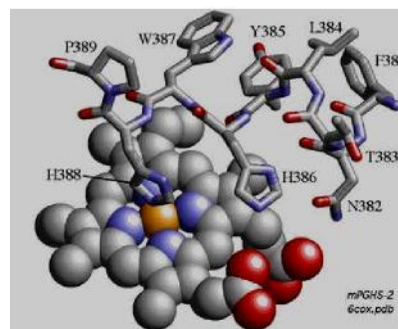
Molécules indispensables aux phénomènes vitaux, Les enzymes ont un rôle comparable à celui des catalyseurs, qui accélèrent les réactions chimiques. Sans l'action enzymatique, le métabolisme des cellules serait trop lent pour assurer efficacement le renouvellement des structures cellulaires. Sans enzymes, la vie ne serait probablement pas apparue sur la Terre.

Le marché des enzymes est en très forte croissance : entre 1995 et 2000, il a été multiplié par un facteur 10. La demande est en effet très forte, les enzymes intervenant aujourd'hui dans la quasi-totalité des procédés agroalimentaires : élaboration des arômes, fabrication des jus de fruits et des boissons gazeuses, dans la fabrication du pain, etc. Elles interviennent également dans de nombreux autres domaines tels que l'industrie pharmaceutique, la fabrication des lessives ou l'alimentation animale et dans les techniques de dosage immuno enzymatiques (ELISA) par exemple.

PARTIE 1.

NOTIONS GENERALES SUR LES ENZYMES

ET LA REACTION ENZYMATIQUE



Chapitre 1

Généralités sur les enzymes

1.1 Historique

Les premières études portant sur les enzymes et auxquelles on peut faire référence datent du XVIII^e siècle, alors qu'à cette époque la notion d'enzyme n'existait pas. Leur activité a été mise en évidence dans des expériences relativement simples effectuées par Reaumur en 1752, puis par Spallanzani vers 1780, qui montrent notamment que le suc gastrique – alors appelé *dissolvant* – des oiseaux est impliqué dans la digestion de la viande. Les agents de cette dégradation, les enzymes, seront découverts plus tard. En 1826, Eilhard Mitscherlich, chimiste allemand, montre l'existence de « ferments solubles » dans l'orge germée. La substance active impliquée est isolée du malt par Payen et Persoz en 1833 ; elle se présente sous la forme d'un solide blanc amorphe, soluble dans l'eau, qu'ils nomment *diastase*. Ce terme a servi pendant longtemps à désigner toutes les substances provoquant des fermentations, puis le suffixe *-ase* a été conservé pour signifier l'activité enzymatique d'une molécule. La diastase ainsi isolée a ensuite été appelée *amylase*, puisque c'est une enzyme de dégradation de l'amidon. À partir de 1835, Jöns Jacob Berzelius, surtout connu pour ses travaux en chimie, s'intéresse aux processus catalytiques et finit par assimiler la fermentation à une catalyse. Par la suite, de nombreux travaux ont permis de définir de nouvelles diastases : la pepsine (mise en évidence par Schwann, 1836), l'émulsine (Wöhler et Liebig, 1837), la lipase du pancréas (Claude Bernard, 1840), l'invertase de la levure (Berthelot, 1860), la trypsine du pancréas (Kühne, 1877). En 1894, Gabriel Bertrand isole un ferment, la laccase, dont les propriétés sont différentes de celles des ferments étudiés jusqu'alors. Ces derniers sont dotés d'une activité hydrolytique (décomposition d'une molécule par son association avec de l'eau), tandis que la lactase possède une activité oxydante. Pendant ce temps, Louis Pasteur développe ses recherches en microbiologie et constate que les fermentations sont dues à des micro-organismes, les levures. La notion de « ferments figure », c'est-à-dire visibles et ayant une forme, s'oppose alors à celle de « ferments solubles ». En 1897, Eduard Büchner résout le problème en montrant que les ferments figures contiennent les ferments solubles, et ne peuvent agir que par leur intermédiaire : la substance qu'il extrait de la levure de bière, et qu'il nomme *zymase*, possède, *in vitro*, toutes les propriétés de fermentation de la levure. Ces travaux fondamentaux furent couronnés du prix Nobel de chimie en 1907. Le terme « enzyme » (du grec *en*, « dans », et *dzumê*, « levain ») est proposé par Kühne en 1878.

Depuis le début du XX^e siècle, l'enzymologie a permis des progrès importants, notamment concernant la nature protéique des enzymes ; cette certitude a été acquise en **1926**, lorsque James B. Sumner a réussi, pour la première fois, à isoler, purifier et cristalliser une enzyme, l'uréase. Depuis, plusieurs centaines d'enzymes sont connues, comme la ribonucléase, qui fait partie de celles dont la structure est parfaitement connue. Les enzymes sont définies aujourd'hui comme des catalyseurs solubles produits par chaque organisme vivant, au sein duquel ils sont souvent spécifiques d'une seule réaction biochimique.

1.2 Définition

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui permettent aux réactions chimiques nécessaires à la vie et à la multiplication cellulaire de s'effectuer à vitesse élevée et avec une spécificité qui élimine la formation de sous-produits.

1.3 La structure des enzymes

1.3.1 Rappel sur la structure des enzymes

L'appartenance des enzymes à la famille des protéines leur confère des caractéristiques structurales communes. C'est ainsi que l'on retrouve les différents niveaux de structure protéique, chacun intervenant directement ou indirectement dans le fonctionnement de l'enzyme.

Les protéines sont constituées par l'enchaînement d'acides aminés – une vingtaine – appartenant tous à la série L.

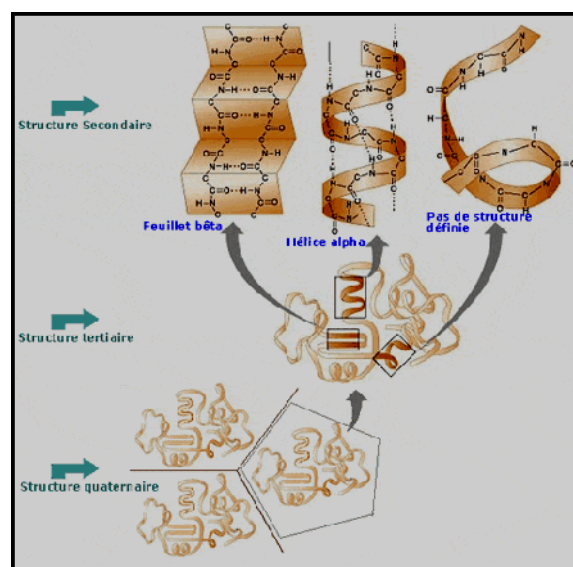


Figure 1.1 Les différentes structures d'une protéine enzymatique

La structure primaire est la description de la séquence en acides aminés, de l'extrémité N-terminale vers l'extrémité C-terminale. Compte tenu de la taille des protéines, cette description se fait en utilisant une écriture simplifiée (code à 3 lettres ou à 1 lettre) par exemple la séquence de la protéase V8 de *Staphylococcus aureus* est :

Val-Ile-Leu-Pro-Asn-Asn-Asp-Arg-His-Gln-Ile-Thr.....

Ou VILPNNDRHQIT

Val : ou V : valine

Ala: ou A : Alanine

Gly : ou G : glycine

Leu : ou L : Leucine

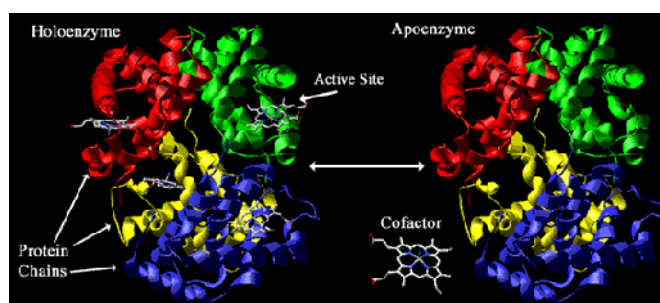


Figure 1.2 Structure moléculaire d'une Enzyme

Les acides aminés sont liés entre eux par une liaison peptidique, qui résulte de la condensation entre une fonction acide carboxylique ($R-COOH$) et une fonction amine ($R-NH_2$). La formation de cette liaison par réaction chimique nécessite l'activation de la fonction acide, sous forme soit d'halogénure, soit d'ester, soit enfin d'anhydride d'acide.

La structure secondaire consiste en une organisation spatiale locale mettant en jeu des liaisons faibles, dont la liaison hydrogène. Celle-ci s'établit entre un petit atome électronégatif (O et N dans les protéines) et un atome d'hydrogène ; elle possède une énergie relativement faible (de 20 à 25 kilojoules par liaison), mais sa multiplicité peut stabiliser des structures locales connues sous le nom d'hélices α , feuillets β .

La structure tertiaire correspond à la conformation générale de la chaîne polypeptidique dans l'espace. Elle est le résultat aussi bien des structures secondaires précédemment citées que d'interactions variées, intervenant entre des acides aminés plus ou moins voisins. Les liaisons et interactions qui entrent en jeu sont essentiellement :

- les liaisons hydrogène ;
- les liaisons ioniques (entre acide aminé chargé comme par exemple l'acide glutamique et la lysine, à des pH voisins de la neutralité) ;
- les interactions hydrophobes (entre chaînes latérales non polaires, par exemple) ;
- les ponts disulfures qui s'établissent entre deux cystéines en formant des liaisons –S-S- qui représente un état oxydé de la fonction –SH. Ils jouent un rôle important dans la cohésion moléculaire. La réduction d'un pont disulfure peut entraîner la rupture en cascade de nombreuses autres liaisons qui stabilisent la forme native de la protéine, donnant naissance au phénomène de dénaturation ;
- les liaisons de coordination avec des ions métalliques. Dans ce cas il y a formation d'un complexe de coordination qui possède une géométrie bien déterminée, analogue à celle que l'on rencontre dans des ions complexes comme le ferrocyanure.

La structure quaternaire résulte de l'association de plusieurs chaînes polypeptidiques, identiques ou non, par l'intermédiaire de liaisons hydrogène, ioniques ou hydrophobes. Cette superstructure, qui ne se rencontre pas pour toutes les protéines, est responsable de très importantes propriétés biologiques. Les enzymes qui possèdent cette structure jouent souvent un rôle important au niveau de la régulation des métabolismes (cas de la phosphofructokinase PFK ou de l'aspartate transcarbamylase par exemple). Afin de ne pas être actives dès leur biosynthèse, ces enzymes sont produites sous formes de précurseurs inactifs, appelées zymogènes, dont la conformation est telle que le site actif n'est pas accessible aux substrats.

1.3.2 Le site actif

Une des caractéristiques de la catalyse enzymatique est la localisation, dans un domaine bien déterminé, de l'ensemble de la réaction, c'est-à-dire de la formation du complexe enzyme/substrat et des transformations ultérieures qui aboutissent à la formation du produit. Il est donc important de connaître le domaine de réaction, les groupements catalytiques et les forces qui interviennent dans les différentes étapes. La difficulté vient de la rapidité des réactions et du manque des techniques permettant une description précise de la réaction enzyme/substrat.

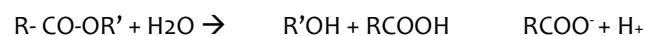
L'enzyme après avoir fixé le substrat, va ensuite le transformer. La structure spatiale est telle que dans un voisinage et à des distances adéquates se trouve des groupements fonctionnels dont les actions différentes et complémentaires réalisent la réaction. La petite portion impliquée dans la fixation et le positionnement du substrat ainsi que dans les réactions de catalyse est appelée site actif, il est situé sur l'apoenzyme d'où on classe les acides aminés composant la protéine enzymatique en 5 groupes :

- acides aminés indifférents : rôle inconnu et qui peuvent être éliminés sans modifier l'activité enzymatique ;
- acides aminés collaborateurs : rôle de maintien de la structure globulaire de la protéine, leur élimination entraînera une hyper fragilité de l'enzyme ;
- acides aminés de fixation : ayant comme rôle principal d'assurer la fixation du substrat par les liaisons plus ou moins fortes;
- acides aminés auxiliaires dont le rôle est d'assurer la flexibilité de la molécule au voisinage du site;
- acides aminés de réaction qui assurent la réaction biochimique qui leur correspond et constituent la partie catalytique du centre actif.

1.4 Caractéristiques des enzymes

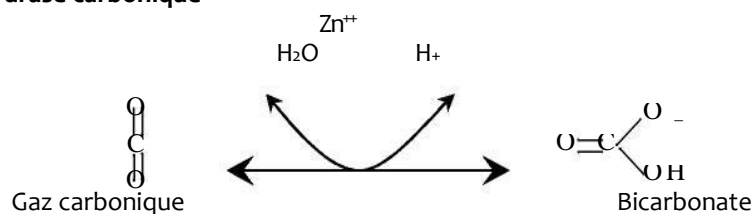
- Les protéines enzymatiques sont des catalyseurs; c'est-à-dire qu'en agissant à des concentrations très petites, elles augmentent la vitesse des réaction chimiques sans en modifier le résultat ni formation de sous-produits. A la fin de la réaction la structure de l'enzyme se trouve inchangée ;
- Une enzyme donnée est spécifique d'une réaction, c'est-à-dire qu'elle catalyse toujours la même réaction de **transformation**, se produisant sur les mêmes corps chimiques initiaux;
- Les protéines enzymatiques sont synthétisées par des êtres vivants. Cette synthèse est déterminée génétiquement : sa conservation dans le génome est favorisée par le besoin qu'éprouve cet être vivant de faire cette réaction.
- Les réactions enzymatiques sont réversibles. Une enzyme capable de catalyser une réaction dans le sens A vers B peut aussi catalyser la réaction B vers A si les conditions thermodynamiques sont favorables. Le cas des réactions d'hydrolyse ex :

Ester + eau → alcool + acide



Exemple :

L'Anhydrase carbonique



L'anhydrase carbonique est une enzyme présente dans toutes nos cellules. La présence d'un atome de Zinc est nécessaire à son activité.

Elle catalyse la réaction d'addition d'une molécule d'eau sur une molécule de gaz carbonique pour donner l'acide carbonique qui se dissocie au pH physiologique en un ion bicarbonate et un proton.

1.5 Classification des enzymes

Un très grand nombre d'enzymes ont été identifiées au cours des dernières années. Se pose alors le problème de leur dénomination et de leur classification. Un certain nombre d'enzymes sont fréquemment désignés à l'aide de noms communs, consacrés par l'usage (pepsine, trypsine, chymotrypsine, papaïne, etc.) qui n'apportent guère d'information quant au substrat et à la réaction catalysée. Dans certains cas, pour désigner les enzymes catalysant des réactions d'hydrolyse, on utilise le nom du substrat suivi du suffixe « ase » (peptidase, phosphatase, arginase, etc.). Une dénomination un peu plus précise (nom du substrat puis celui de la réaction catalysée avec le suffixe « ase » exemple : malate déshydrogénase.

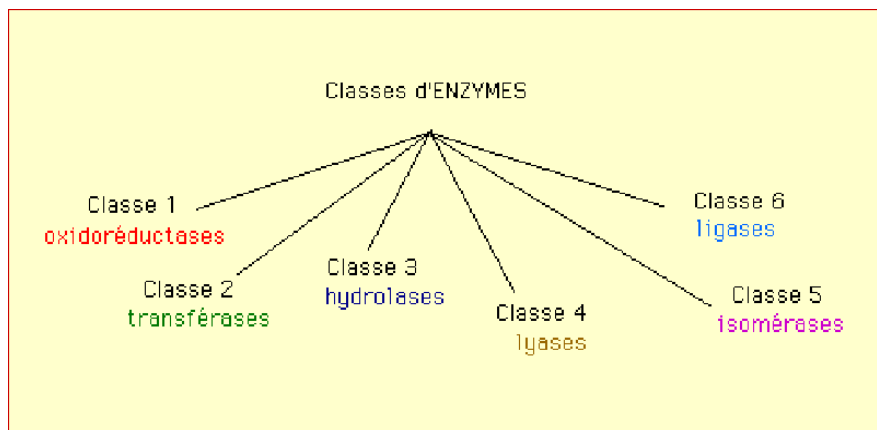


Figure 1.3 Les Six classes d'enzymes

1.5.1 Classification Fonctionnelle

Le nom commun recommandé : C'est l'appellation consacrée par l'usage. Exemples : Glucokinase, Lactate déshydrogénase

Elle est très utilisée. Elle prend en compte le nom du substrat de l'enzyme et le type de réaction catalysée. Pour désigner une enzyme on indique :

- d'abord le nom du substrat
- puis le type de réaction catalysée
- on ajoute enfin le suffixe ase.

Par exemple :

- glucose-6-phosphate isomérase - Isocitrate lyase
- pyruvate carboxylase

Lorsque l'enzyme utilise 2 substrats on les désigne tous les deux en indiquant

- le substrat donneur de radicaux
- puis le substrat accepteur du radical libère
- le radical échange
- le type de réaction
- on ajoute enfin

ase. Par exemple

- ATP-glucose phosphotransferase
- UDP glucose-fructose glucosyltransferase - Glutamate pyruvate aminotransferase.

Dans le cas d'une réaction équilibrée réversible, on peut former les noms à partir des substrats ou des produits.

1.5.2 Classification Officielle des Enzymes

Actuellement connues sont répertoriées sous un numéro portant 4 nombres séparés par des points et précédés de EC soit (ECx1.x2.x3.x4). La signification des nombres est la suivante :

X1: Le 1^{ier} nombre pouvant varier de 1 à 6 indique le type de réactions

- 1: Oxydoréductases (transfert d'électrons, d'atomes d'hydrogène ou fixation d'oxygène) ;
- 2: Transférases (transfert d'atomes ou de groupes d'atomes autres que ceux 1) ;

- 3: Hydrolases (Coupure des liaisons avec fixation de radicaux H et OH issus de l'eau);
- 4 : Lyases (Coupure des liaisons par d'autres modes autres que l'hydrolyse);
- 5 : Isoméras (réaction conservant la formule brute du composé);
- 6 : Ligases (formation des liaisons entre C et un autre metalloïde en utilisant l'énergie de l'ATP)
- 7 : **Translocase. Une dernière classe qui vient juste d'être découverte en Aout 2018.**

X2: Le 2^{ème} désigne la sous-classe de l'enzyme qui est définie suivant son mécanisme d'action. Dans le cas des oxydoréductases on distingue les déshydrogénases, les mono oxygénases et les di oxygénases.

X3: Le 3^{ème} nombre désigne la nature de la molécule qui sert d'accepteur, lorsqu'il s'agit d'un transfert d'électrons.

X4 : Le 4^{ème} nombre est un numéro d'ordre dans le groupe et dans le sous-groupe. Lorsqu'une enzyme se termine par 99, cela signifie qu'elle est incomplètement caractérisée.

Cette classification officielle précise et complète la nomenclature fonctionnelle. Dans un rapport ou une publication le nom fonctionnel continue à être utilisé mais ce dernier est toujours suivi entre parenthèses par son numéro dans la nomenclature officielle.

En métabolisme, lorsqu'on rencontre, dans un texte, un nom d'enzyme qu'on ne connaît pas il faut essayer d'imaginer son rôle en procédant de la façon suivante :

- déterminer le substrat et sa structure.
- déterminer le type de réaction et essayer d'adapter le type de réaction à la structure trouvée, en se demandant quelle est la partie de la molécule qui réagit.
- Enfin reconstituer la réaction et les produits formés.

La plupart des réactions que nous allons rencontrer au cours du métabolisme sont simples. Les noms des enzymes dans la nomenclature fonctionnelle vont nous permettre d'écrire facilement les réactions catalysées.

En **1961** la CEUIB Commission des Enzymes de l'Union International de Biochimie a établi une classification et une nomenclature systématique, comportant 6 classes divisées en sous -classes, comportant elle-même des sous sous-classes. Dans cette nouvelle dénomination la malate déshydrogénase est appelée **malate-NAD-oxydoréductase** (indiquant le type de réaction, nom du substrat et le nom de l'accepteur d'H₂).

Chaque enzyme se voit attribué un N° de code, un nom systématique et éventuellement un nom commun recommandé.

1.5.3 Les sept classes d'enzymes

1. Oxydoréductases

LES ENZYMES D'OXYDOREDUCTION ET DE FIXATION D'OXYGENE

Cette classe comprend les anciennes déshydrogénases, oxydases, peroxydases, hydroxylases, oxygénases, etc.

Agissant sur un groupement CH-OH : (du donneur d'H₂)

Avec le NAD⁺ ou NADP⁺.

Exemple : La L-malate : NAD oxydoréductase (1.1.1.37)

Ou la L-lactate : NAD oxydoréductase (1.1.1.27)

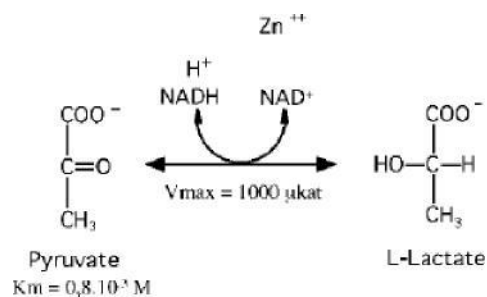


Figure 1.4 Réduction de l'acide pyruvique en acide lactique sous l'action de la LDH

Avec un cytochrome comme accepteur

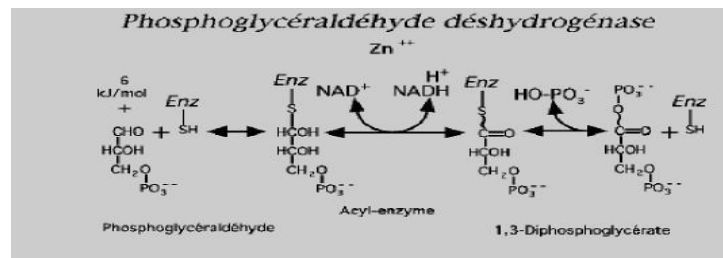
Avec O₂ comme accepteur d'hydrogène

Ex : glucose oxydase ou β-D-glucose : oxygène-oxydoréductase

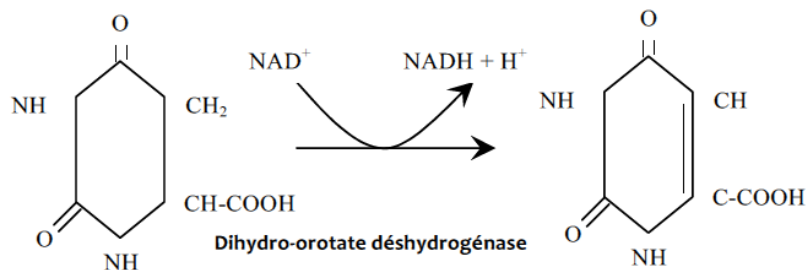
Agissant sur un groupement C O (aldéhyde ou cétone)

NAD⁺ ou NADP⁺ comme accepteur

Exemple : D-glycéraldéhyde – 3 – phosphate: NAD-oxydoréductase (1.2.1.12) au niveau de la glycolyse



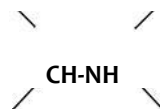
Agissant sur un groupement



Acide orotique

Acide Dihydro-ototique

Agissant sur un groupement

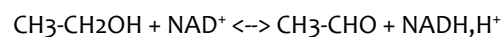


Avec la NAD⁺ ou le NADP⁺ comme accepteur

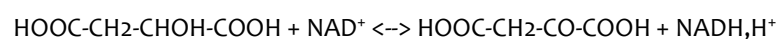
Ex : L-glutamate : NAD oxydoréductase (1.4.1.2)

Autres exemples

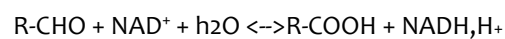
- alcool deshydrogenase (EC 1.1.1.1)



- Malate deshydrogenase (EC .1.1.37)



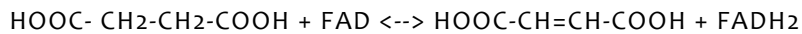
- Aldéhyde deshydrogenase (EC 1.2.1.3.)



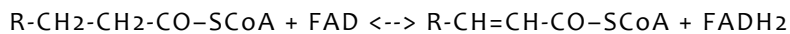
- Déshydrogénases faisant apparaître des doubles liaisons

Le cofacteur accepteur des hydrogènes est le FAD. Il est lié à l'enzyme par une liaison covalente:

- Succinate déshydrogénase (EC 1.3.99.1)



- Acyl-CoA déshydrogénase (EC 1.3.99.3)



2. Transférases

Ces enzymes transfèrent des radicaux ou des groupes d'atomes d'une molécule (substrat donneur) à une molécule (substrat accepteur). Leur nom complet comporte le donneur, l'accepteur, le radical transféré suivi de transférase. Les groupes transportés sont :

- le méthyle (-CH₃), l'hydroxyméthyle (-CH₂OH), Carboxyle (-COOH), groupement carbones comportant des fonctions aldéhydes ou cétones (-CHO) ou (-CO-R), groupe acyle, groupe osidyle, amine, phosphoryle, etc...

Transférant un groupement carboné « C » ou Méthyle

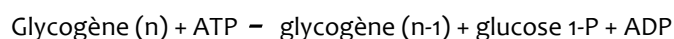
Ex : Méthyle transférase ou hydroxyméthyltransférase, formyl transférase, carboxyl transférase.....

- Protéines -N-méthyl transférase (EC 2.1.1.23) : elles méthylent les résidus basiques comme arginine et la lysine dans des protéines spécifiques.

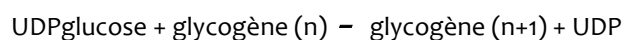
Enzymes transférant des molécules glucidiques

Les radicaux osidiques sont transférés sur des molécules appropriées. En voici quelques exemples :

- Glycogène phosphorylase (EC 2.4.1.1)



- Glycogène synthase



Aminotransférases

Elles transfèrent les groupements amines. Le coenzyme est le pyridoxal phosphate - Aspartate amino transférase (EC 2.6.1.1)

Aspartate + α -cétoglutarate – oxaloacetate + glutamate

- Alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2)

Alanine + α -cétoglutarate – pyruvate + glutamate.

Phosphotransferases

La fixation d'un groupe phosphate à une molécule sert à son activation et à sa reconnaissance comme substrat dans les réactions du métabolisme glucidique. On leur donne le nom de kinases ou de phosphorylases.

Sur les oses

- Hexokinase (EC 2.7.1.1)

- Glucokinase (EC 2.7.1.2)

- Phosphofructokinase ou fructose 6-[®] kinase (EC 2.7.1.4)

Sur les lipides

- Glycérol kinase (EC 2.7.1.30)

Sur les molécules aminées

- Créatine kinase (EC 2.7.3.1)

ATP + créatine – Phosphocréatine + ADP

3. Hydrolases

Ce sont des enzymes de dégradation. Elles provoquent la coupure d'une molécule et fixent les radicaux H et OH de l'eau sur les valences libres. Ce sont des enzymes sans coenzymes. Elles interviennent sur les fonctions éthers, acétals, esters phosphoriques, liaisons O-O des peroxydes, C-N des amides. Il est très difficile de les classer. Le plus simple est d'étudier leur action sur quelques groupes de molécules.

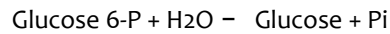
Hydrolases des glucides

On les appelle des osidases. Elles coupent les liaisons O-osidiques ou N-osidiques. Elles sont spécifiques de leurs substrats et de l'anomérisation des carbones acétaliques. Sur les osides on distingue les α -glucosidases, β -glucosidases, β -galactosidases. Sur les polyosides, on a les α -amylases, β -amylases, elles hydrolysent toutes les deux les liaisons α (1,4) et l'amyloglucosidase qui hydrolyse à la fois les liaisons α (1,4) et α (1,6).

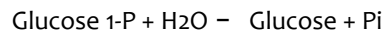
Hydrolases des esters phosphoriques d'oses

On y rencontre les phosphatases qui enlèvent le groupement phosphorique. Leur rôle est inverse de celui des kinases :

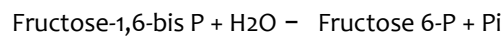
- *Glucose 6-phosphatase*



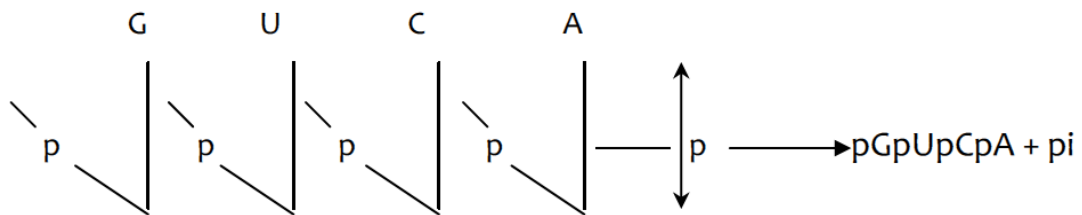
- *Glucose 1-phosphatase*



- *Fructose 1,6 bisphosphatase*



Phosphomonoestérases (phosphatase alcaline d'*E. Coli*) détachant le groupement phosphate uniquement à l'extrémité.



Action de la phosphatase

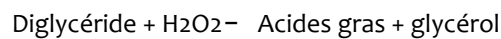
Hydrolases des lipides

Hydrolases des triglycérides

- *Triglyceride lipase*



- *Diglycéride lipase*



Ex : Les lipases (glycérol ester hydrolases) (3.1.1.3)

Hydrolases des peptides et des protéines

Ces hydrolases interviennent sur la liaison peptide des peptides et des protéines. On distingue les peptidases et les protéinases selon que le produit de la réaction est un acide amine ou un peptide.

Les peptidases

- Aminopeptidases libèrent séquentiellement les acides amines N-terminaux.
- Carboxypeptidases libèrent séquentiellement les acides amines C-terminaux.

- Dipeptidases hydrolysent les dipeptides.

- Protéinases : hydrolases des protéines

On les appelle des endoprotéinases car elles coupent les liaisons peptidiques situées à l'intérieur de la protéine loin des acides amines C et N terminaux. On peut les nommer suivant leur site d'action ou la structure des protéines elles-mêmes.

- Selon leur lieu d'action on distingue :

- les protéinases des sucs digestifs
- les protéinases du plasma sanguin
- les protéinases du tissu conjonctif
- les protéinases intracellulaires

Selon la structure, leur nom dérive de l'acide aminé ou du métal situé au niveau de leur site catalytique. C'est ainsi que nous distinguons :

Les serine-protéinases

- la trypsine du pancréas (3.2.21.4)
- la chymotrypsine (3.4.21.1) du pancréas
- la thrombine (3.4.21.5) du plasma

sanguin les thiol-protéinases

la papaine (3.4.22.2) protéine végétale

les metalloprotéinases la collagénase (3.4.24.3)

4. Lyases ou Synthases

Catalysant l'enlèvement d'un groupement autrement que par hydrolyse (avec souvent création d'une double liaison) ou au contraire l'addition d'un groupement.

(C-C) Lyases

4.1.1 Les carboxylases (carboxylases ou décarboxylases)

Ex : aspartate décarboxylase 4.1.1.12

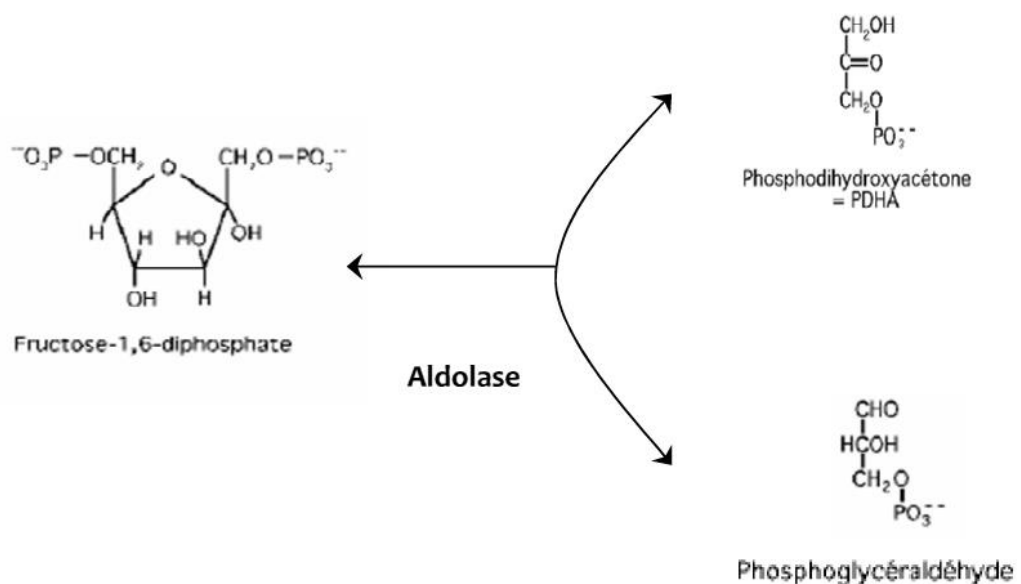
4.1.2 Aldéhydes-lyases

Ex : Aldolase ou D-glycéraldéhyde-3-phosphate lyase (4.1.2.13)

Les décarboxylases sont des enzymes à phosphate de pyridoxal, présent chez les micro-organismes et dans les tissus animaux. Les bactéries intestinales notamment ont des enzymes capables de décarboxyler la lysine et l'ornithine respectivement en cadaverine et putrescine, amines toujours présents en petites quantités dans l'intestin, si leur concentration est élevée ceci peut engendrer une intoxication à la suite d'une fermentation.

Ex : Aldéhyde- lyase

Fructose bi phosphate Aldolase ou fructose 1-6 phosphate: D-glycéraldéhyde-3-phosphatylase (4.1.2.13)



C-O lyases

C-N lyases

Ammoniac lyase

Ex : L-aspartate-ammonium lyase (4.3.1.1)

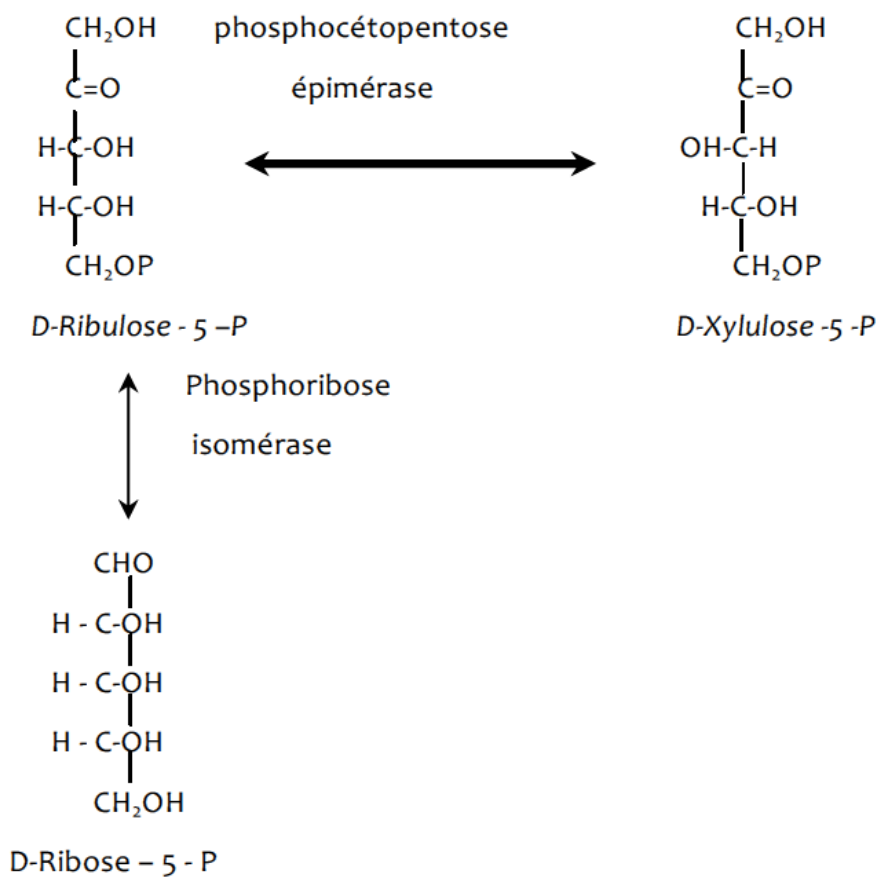
5. Isomérase

Ex : L-alanine \longleftrightarrow D-alanine (Alanine racémase)

Racémases et épimérase Agissant sur les aminoacides

Agissant sur les oses

Ex : D- Ribulose -5-phosphate -3 Epimérase



5.2 Cis-trans isomérase

5.3 Oxydoréductases intramoléculeaires

5.3.1 Catalysent l'inter conversion aldose cetose Ex: la triose-phosphate isomérase (5.3.1.1) Glucose 6-phosphate isomérase (5.3.1.10)

6. Ligases ou synthétases

Enzymes permettant l'union de deux molécules, en présence d'énergie (ATP ou GTP)

Formation de liaison C-O

Formation de liaison C-S (Acetyl-coA synthetase)

Formation de liaison C-N

Formation de liaison C-C

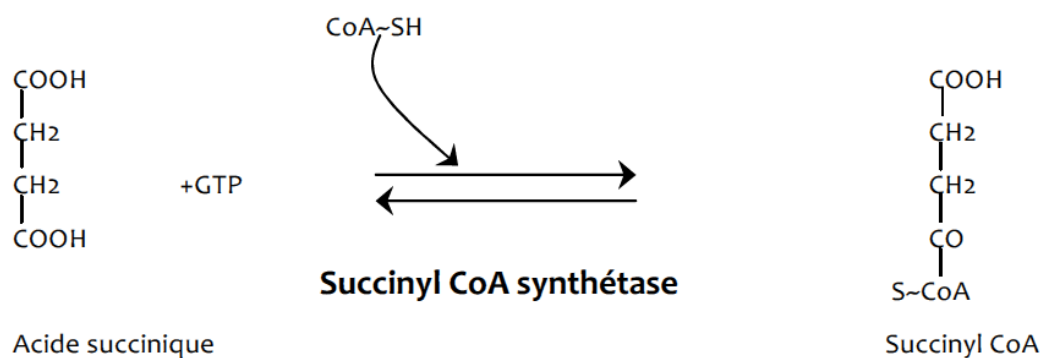
Donc la nomenclature des réactions enzymatiques est exprimée par un ensemble de quatre nombres séparés par des points.

Le premier de ces nombres désigne le type de la réaction catalysée, le deuxième et le troisième expriment la nature du corps, le quatrième est un numéro d'ordre. Ainsi l'Anhydrase carbonique catalyse la réaction 4.2.1.1 (Lyase), ce qui signifie qu'elle agit sur une réaction d'addition au niveau d'une liaison double (4)

(2) : la réaction crée une liaison entre des atomes C et O (C-O)

(1) : le corps ajouté est une molécule d'eau

(1) : elle est la première de cette espèce



7. Translocases

C'est la petite dernière des classes, apparue très récemment, en aout 2018.

Les translocases catalysent le transfert d'ions ou de molécules depuis la face "1" vers la face "2" d'une membrane. Une translocase fameuse est l'ATP synthase, de nomenclature la plus officielle H⁺-transporting two-sector ATPase, EC 7.1.2.2. Une autre céléberrissime, le complexe 1 de la chaîne respiratoire mitochondriale qui transloque des protons en couplage à une réaction redox, l'oxydation du NADH et la réduction de l'ubiquinone ; nom le plus systématique = NADH: ubiquinone reductase (H⁺-translocating), EC 7.1.1.2.

Naviguer dans le tableau hypertexte des isomérases proposé par la page internet à l'adresse ci-dessous pour retrouver ces 2 enzymes.

<https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/EC2/> ou via

<https://www.enzyme-database.org/class.php>

1.5.4 Classification internationale des enzymes (Tableau)

Le document de base est actuellement « Enzyme Nomenclature 1978 ». En se limitant aux classes et sous-classes, la classification est la suivante :

1. Oxydoréductases

- 1.1. Agissant sur les groupes CH—OH
- 1.2. Agissant sur les groupes aldéhydes et cétones
- 1.3. Agissant sur les groupes CH—CH
- 1.4. Agissant sur les groupes CH—NH₂
- 1.5. Agissant sur les groupes CH—NH
- 1.6. Agissant sur le NADH ou NADPH
- 1.7. Agissant sur les autres groupes azotés
- 1.8. Agissant sur les groupes soufrés
- 1.9. Agissant sur les groupes hématiniques
- 1.10. Agissant sur les diphénols et les substances apparentées
- 1.11. Agissant avec H₂O₂
- 1.12. Agissant sur l'hydrogène comme donneur
- 1.13. Comportant l'incorporation d'oxygène moléculaire et un donneur unique
- 1.14. Comportant l'incorporation d'oxygène moléculaire et des donneurs multiples
- 1.15. Agissant sur les radicaux superoxydes
- 1.16. Oxydant lesions métalliques
- 1.17. Agissant sur les groupes CH₂
- 1.18. Autres oxydo-réductases

2. Transférases

- 2.1. Transférant un groupe monocarboné
- 2.2. Transférant un résidu aldéhydique ou cétonique
- 2.3. Acyl-transférases
- 2.4. Glycosyl-transférases
- 2.5. Transférant des groupes alkyl ou aryl, autres que le méthyle
- 2.6. Transférant des groupes azotés
- 2.7. Transférant des groupes phosphorés
- 2.8. Transférant des groupes soufrés

3. Hydrolases

- 3.1. Agissant sur les liaisons esters
- 3.2. Agissant sur les composés glycosylés
- 3.3. Agissant sur les liaisons éther-oxydes
- 3.4. Agissant sur les liaisons peptidiques
- 3.5. Agissant sur les liaisons C—N non peptidiques

- 3.6. Agissant sur les anhydrides d'acides
- 3.7. Agissant sur les liaisons C—C
- 3.8. Agissant sur les liaisons halogéniques
- 3.9. Agissant sur les liaisons N—P
- 3.10. Agissant sur les liaisons S—N
- 3.11. Agissant sur les liaisons C—P

4. Lyases

- 4.1. C—C lyases
- 4.2. C—O lyases
- 4.3. C—S lyases
- 4.5. C—halogène lyases
- 4.6. P—O lyases
- 4.99. Autres lyases

5. Isomérase

- 5.1. Racémases et épimérase
- 5.2. Cis-trans isomérase
- 5.3. Oxydo-réductases intramoléculaires
- 5.4. Transférases intramoléculaires
- 5.5. Lyases intramoléculaires
- 5.99. Autres isomérase

6. Ligases ou synthétases

- 6.1. Formant des liaisons C—O
- 6.2. Formant des liaisons C—S
- 6.3. Formant des liaisons C—N
- 6.4. Formant des liaisons C—C
- 6.5. Formant des liaisons ester—phosphate