

Cinétique enzymatique

- Chapitre 1 : Propriétés générales des enzymes
- Chapitre 2 : **Mécanismes enzymatiques**
- Chapitre 3 : Étude expérimentale
- Chapitre 4 : Modèle de Michaélis
- Chapitre 5 : Influence du milieu d'étude
- Chapitre 6 : Allostérie
- Chapitre 7 : Mécanismes BiBi

Mécanismes d'action des enzymes

- Le mécanisme d'action des enzymes a été déterminé en premier lieu à partir de l'étude des propriétés cinétiques des enzymes. Cependant, à elles seules ces études sont insuffisantes.

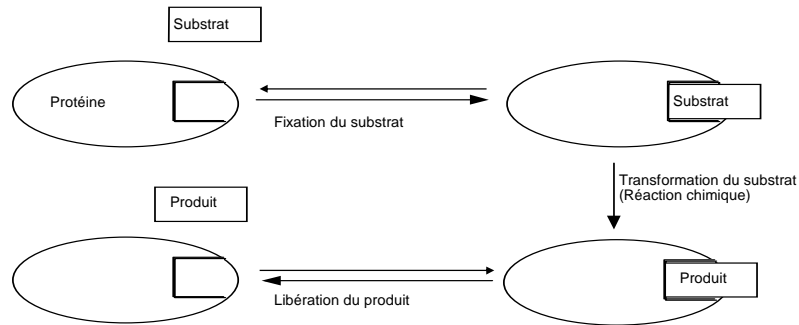
La compréhension du mécanisme n'est donc pas indispensable pour l'étude cinétique qui sera l'objet de ce cours.

Elle devrait en fait en être la conclusion.

Principe général

• Comme pour toute protéine, un mécanisme enzymatique commence par la fixation d'un substrat (**ligand**) par des liaisons faibles sur une zone particulière de l'enzyme, dite **site de fixation**.

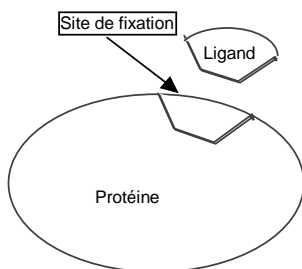
• A ce site, le substrat est transformé en produit, puis celui-ci est libéré. Le site de fixation du substrat est dit **site actif**.



• L'enzyme possède en plus des sites de fixation de ligand modulateurs

Fixation d'un ligand

• La fixation du ligand s'effectue par des interactions faibles entre les fonctions portées par celui-ci et des restes d'acides aminés ou des cofacteurs.



• Liaisons faibles intervenant (0 à 50 kJ)

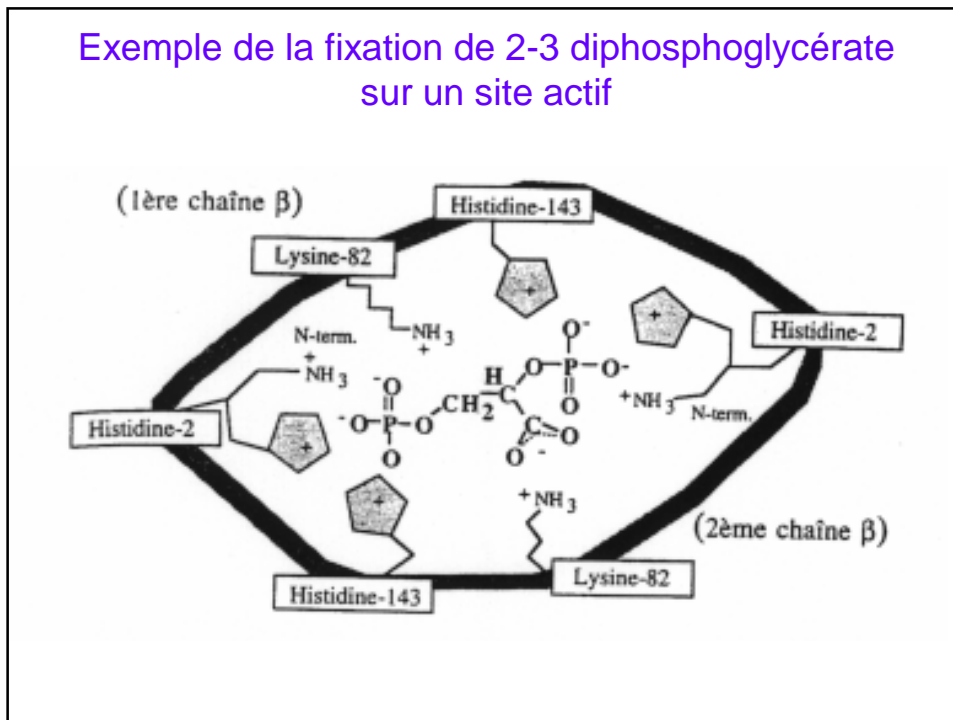
- Liaisons de Van der Waals
- Liaisons hydrogène
- Liaisons ioniques
- Liaisons hydrophobes

• Le substrat est immobilisé dans son site de fixation : il y a donc un minimum de 3 groupes

• Cette fixation implique que le site de fixation aie, en creux, une forme voisine de celle du substrat.

Lorsque celui-ci se fixe, l'ajustement induit lui permet d'acquérir exactement sa forme.

Exemple de la fixation de 2-3 diphosphoglycérate sur un site actif



Principe du mécanisme catalytique

- Une réaction chimique entre molécules organiques revient à des basculements de doublets d'électrons rompant des liaisons σ ou π et en créant d'autres.
- Ces basculements sont provoqués par des attaques nucléophiles ou électrophiles du substrat

NB : Il existe un autre type de réaction, dit radicalaire, qui, en général, n'intervient pas dans la catalyse enzymatique.

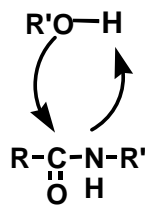
Attaque nucléophile et électrophile

• Réaction nucléophile

On appelle attaque nucléophile, le transfert d'un doublet d'électrons d'un composé nucléophile vers un composé pauvre dit électrophile

• Réaction électrophile

On appelle attaque électrophile, la réaction inverse

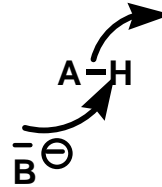


Cette réaction peut être considérée comme l'attaque nucléophile de l'alcool par l'amide

Ou

Comme l'attaque électrophile de l'amide par l'alcool

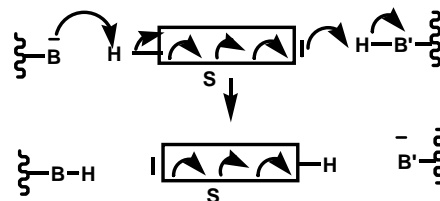
- Les bases sont des réactifs nucléophiles et les acides des réactifs électrophiles.
- Les réactions acide-base sont donc des réactions nucléophile - électrophile



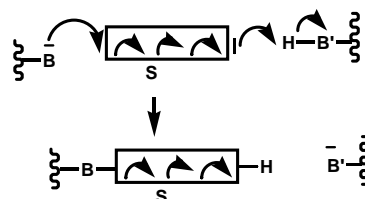
Catalyse enzymatique :

double attaque nucléophile et électrophile

- Chaque étape d'une réaction enzymatique est assurée par une double attaque électrophile et nucléophile du substrat par deux groupes catalytiques
- Celle-ci est en général de type acide -base

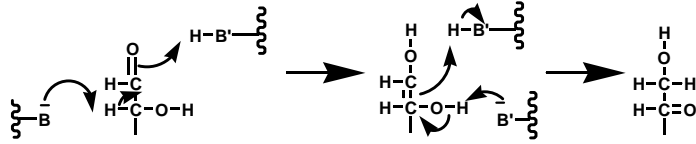


- Elle peut aussi aboutir à la formation d'un intermédiaire covalent

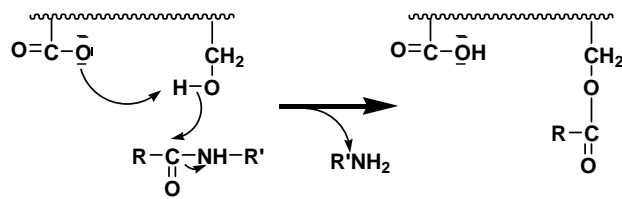


Exemples de catalyse

- Catalyse acido-basique : transposition d'ose (isomérase)



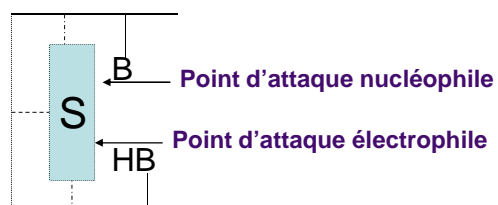
- Formation d'un intermédiaire covalent : chymotrypsine (simplifié)



L'intermédiaire covalent est alors hydrolysé selon un mécanisme acide-base

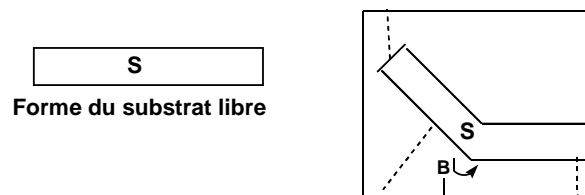
Effet de proximité

- Les liaisons faibles fixant le substrat sur l'enzyme maintiennent les groupes catalytiques au voisinage des liaisons qu'ils vont attaquer. Ceci multiplie par un facteur important la constante cinétique de la réaction.



Effet de tension distorsion

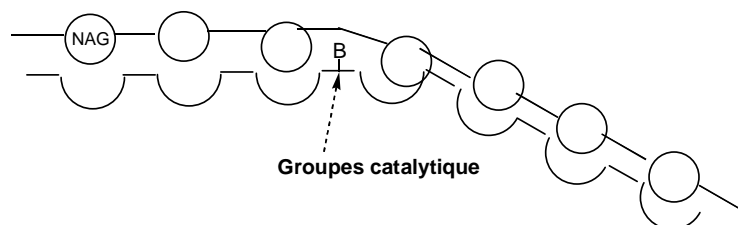
- La fixation du substrat au site actif peut déformer celui-ci.
- Les angles de certaines liaisons peuvent ne plus correspondre à leurs valeurs « normales » (ex $109^{\circ}28'$ pour 2 liaisons sp^3)
- Les liaisons sont alors fragilisées.
- S'il y a attaque nucléophile ou électrophile la constante cinétique est très fortement augmentée.



Ce type d'effet catalytique n'intervient pas pour toutes les enzymes

Effet de tension distorsion : exemple

- Le lysozyme est une endoenzyme qui hydrolyse la liaison osidique entre deux motifs de la poly N acétylglucosamine (NAG).
- Le site actif se présente comme une fente à la surface du lysozyme. Il fixe 7 motif NAG.
- Cette fente présente deux parties linéaires inclinées l'une par rapport à l'autre.
- La liaison entre le 4^{ème} motif et le 5^{ème} fixé est donc déformée.
- C'est en ce point que sont les groupes catalytiques.



Changements de conformation

- La fixation du substrat au site actif peut s'accompagner d'un changement de conformation concernant l'ensemble de la protéine.
- De même, à certaines étapes de l'acte catalytique, l'enzyme peut changer de conformation.