

## II Structure et Formes moléculaires des enzymes

### II.1 Structure des enzymes

Comme il est mentionné dans le chapitre 1, les enzymes sont réparties sur différents organites cellulaires et peuvent être regroupées en : enzymes extracellulaires et intracellulaires.

#### II.1.1 Rappel sur la structure des protéines :

Les protéines sont des macromolécules élaborées par les cellules vivantes, ces protéines sont :

- les plus abondantes représentent 55% ou plus du poids sec de la cellule.
- les plus universelles : présentes dans les virus, les bactéries, les plantes des animaux supérieurs.
- toutes les protéines contiennent C, H<sub>2</sub>, et O<sub>2</sub>, presque toutes les protéines comprennent le soufre(S) et parfois Fe<sup>++</sup>, P, Zn<sup>++</sup> et Ca<sup>++</sup>.
- les protéines sont des macromolécules composées par une chaîne d'acides aminés(Aa) liés entre eux par des liaisons peptidiques.

On parle des protéines, lorsque la chaîne de ces Aa comprend plus de 100 Aa, de polypeptide quand la chaîne peptidique comprend entre 10 à 100 Aa, tandis-que un oligopeptide comprend de 02 à 10 Aa.

Une protéine est formée d'un peptide ou de plusieurs peptides. Chaque protéine a une composition, nombre d'Aa et un enchaînement qui lui sont propres. Du fait de la longueur variable d'arrangement des 20 acides aminés naturels, c'est-à-dire les protéines résultant de la combinaison de 20 Aa différents, leur enchaînement est codé par un génome.

Le nombre de protéine est théoriquement presque infini. Selon la composition on distingue deux (02) types de protéines :

- Holoprotéines : qui sont par hydrolyse ne donnent que des Aa.
- Hétéroprotéines sont associées avec d'autres composés par des liaisons diverses covalentes et non-covalentes.

-Protéines associées à des groupements glucidiques, ce sont des glycoprotéines.

-Celles associées aux lipides sont des lipoprotéines.

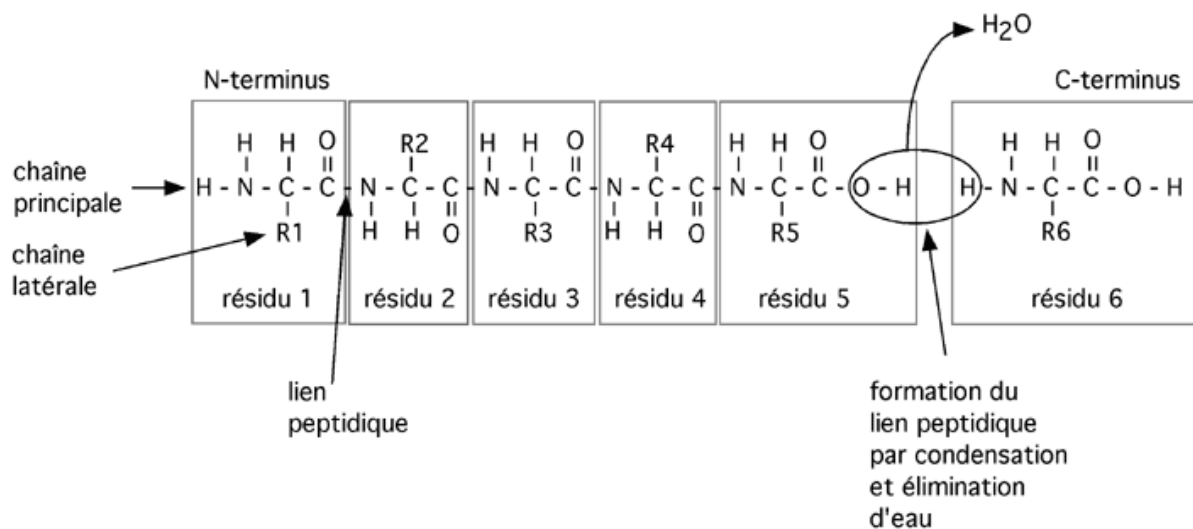
-Celles associées aux ions métalliques, ce sont des métalloprotéines.

Par hydrolyse de ces protéines donnent naissance aux Aa et d'autres groupements (groupement prosthétique).

Les protéines se présentent sous quatre(04) formes différentes.

### II.1.1.1 Structure primaire

La structure primaire concerne l'ordre d'enchaînement des Aa de la protéine (composition, nombre, nature et séquençage), cet enchaînement s'écrit en commençant par le groupement  $\alpha$ -amine libre (Aa N-terminal).



Comme il est mentionné précédemment que les protéines sont constituées de 20 Aa qui sont classés selon la chaîne latérale qui joue un rôle important dans la stabilité des protéines.

Les acides aminés peuvent être classés suivant le caractère polaire, c'est généralement la classification retenue, les Aa regroupés en quatre(04) classes.

#### A)-Aa à chaîne latérale (radical R) non polaire ou hydrophobe

Le radical R est une chaîne aliphatique simple. Tous les Aa possèdent une solubilité réduite. Cette catégorie comprend les Aa suivants : Ala ; Val ; leu ; Ile ; Met ; Pro ;Phe et tyr.

**B)- Aa avec chaîne latérale (R) polaire non chargée (à pH 6-7)**

Ces acides aminés plus solubles dans l'eau, R renferme des groupements fonctionnels neutres, polaires, qui peuvent contracter des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau et augmentent la solubilité de l'acide aminé.

Ces Aa sont : asparagine(Asn) ; Glutamine(Gln), Gly ; Ser ; Thr et Cystéine

**C)- Aa avec chaîne latérale chargée positivement (à pH 6-7)**

Ce groupe comprend 3 acides aminés : la lysine(Lys), arginine( Arg.) et histidine(HS).

**D)-Ac avec une chaîne latérale chargée négativement (à pH 6-7)**

Ces Aa consistent en acide aspartique(Asp) et Acide glutamique(Glu).

Certains acides aminés ne peuvent être synthétisés par l'organisme humain et lui ainsi indispensables .Ces acides aminés sont apportés par l'alimentation.

Chez l'Homme sont au nombre de huit(08) : Leu, Ile, Lys, Met, Phe, Thr, Trp et Val.

On peut constater certaines remarques pour l'enchaînement de ces Aa dans la structure primaire des protéines.

**a)**-Dans l'enchaînement d'Aa d'une protéine seulement les fonctions  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> et  $\alpha$ -COOH sont impliquées dans la liaison peptidique.

**b)**-Les groupements  $\beta$  et  $\gamma$ -COOH ne sont jamais engagés dans la liaison peptidique au sein d'une protéine et ainsi l' $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> de la lysine(Lys).

**c)**-Au pH physiologique dans de très nombreux cas , les groupements ionisables des radicaux R



**II.1.1.2 Structure secondaire**

La séquence en Aa subit des repliements pour former des motifs hélice  $\alpha$  et feuillet  $\beta$ .

-La structure II décrit la conformation locale de la chaîne, la chaîne polypeptidique ne reste jamais sous forme linéaire, elle va subir un remaniement qui lui donnera une structure bidimensionnelle ou structure II.

Deux(02) types de structure II ordonnées sont possibles :

\* L'hélice  $\alpha$

\* La conformation  $\beta$  ou feuillet  $\beta$ .

### **II.1.1.3 Structure tertiaire (ou tridimensionnelle)**

Cette structure est formée de plusieurs motifs donnant une forme spatiale à la protéine. Cette organisation entraîne une localisation des acides aminés polaires en surface externe et les acides aminés apolaires vers l'intérieur de la molécule (zone hydrophobe interne).

-C'est au niveau de cette zone se situe le **site actif enzymatique**. Pour qu'une enzyme soit fonctionnelle il faut qu'elle adopte une structure tertiaire.

### **II.1.1.4 Structure quaternaire**

C'est l'association des sous-unités des protéines polymériques, et l'introduction des éléments non protéiques (groupement prosthétique) sont indispensables à l'activité biologique de la protéine. Dans certains cas la structure quaternaire influe fortement sur l'activité enzymatique. Une légère modification de structure de conformation peut entraîner un changement de l'activité (une inhibition ou une activation).

La flexibilité de la structure quaternaire d'une protéine enzymatique permet la régulation de son activité autrement dit (enzyme régulatrice).

## **II.1.2 Structure des enzymes**

Les enzymes sont des protéines de taille et de poids moléculaire variables : on trouve

- De petites enzymes Ex : ribonucléase
- Moyennes enzymes ex : lysozymes de poids moléculaire de 10000 D.
- Grosses enzymes ex : L-glutamo-déshydrogénase d'un poids moléculaire de 2500000.

Du point de vue de leur nature chimique, les enzymes sont souvent considérées comme des holoprotéines, mais sont en fait presque toujours de

nature **hétéro protéique**, sur un squelette peptidique sont fixés un ou plusieurs groupements prosthétiques.

Certaines enzymes nécessitent des composants chimiques supplémentaires pour leur fonctionnement et selon leur composition on distingue quatre(04) types d'enzymes :

1)-Enzymes constituent uniquement des Aa autrement dit seule la partie protéique c'est l'**apoenzyme**.

Mais la plupart des enzymes doivent pour leur fonctionnement posséder ce qui on appelle un **coenzyme** . Une protéine enzymatique active est donc l'association de deux(02) éléments l'apoenzyme et le coenzyme.

Apoenzyme + coenzyme  $\longrightarrow$  enzyme active

Protéine inactive Gt prosthétique inactif

Si l'on sépare ces deux composants, chacun d'eux est inactif.

Il existe différentes combinaisons des apoenzyme et coenzyme.

2)- Enzyme constitue d'une partie protéique ( apoenzyme) et une fraction organique non protéique( groupement prosthétique : FAD) ou cosubstrat(NAD<sup>+</sup>) indispensables au fonctionnement de l'enzyme.

Apoenzyme+ coenzyme ( gt prosthétique ou cosubstrat)  $\longrightarrow$  enzyme active.

3)-Enzyme constitue d'un apoenzyme coenzyme minérale (cofacteur ex : Mn<sup>++</sup>)

4)- Enzyme constitue d'un apoenzyme et coenzyme organique et coenzyme minéral (cofacteur).

Apoenz + Coenz organique +cofacteur  $\longrightarrow$  Enzyme active.

### II.1.2.1 Notion de coenzyme :

Le cofacteur peut être un ion métallique ou une molécule organique encore appelée coenzyme.

- **Cofacteurs minéraux :**

Dans certaines enzymes, les cofacteurs minéraux (cations métalliques :  $Mg^{++}$  ;  $Mn^{++}$  ;  $Ca^{++}$  ; cobalt Co...) peuvent jouer un des rôles suivants :

- 1- Ils servent à établir un pont entre l'enzyme et son substrat par formation d'un complexe de coordination.
- 2- Ils présentent eux même le centre catalytique (enzymes d'oxydo-réduction).
- 3- Ils stabilisent l'enzyme dans la forme active.

De nombreuses enzymes sont activées par les ions métalliques par-exemple :

-Kinase(ATP)  $Mg^{++}$

-Lipase, trypsine et chymotrypsine par  $Ca^{++}$

-Pyruvate décarboxylase par  $Mn^{++}$

Alcool déshydrogénase par  $Zn^{++}$

- **Coenzymes organiques**

Ils sont nombreux et peuvent être classés de diverses manières en fonction de leur origine, rôle, et de leur structure.

On distingue deux(02) catégories de conenzymes : les groupements prosthétiques et les cosubstrats.

**Caractères généraux à tous les coenzymes :**

- 1- De nature non protéique (minérale ou organique).
- 2- De poids moléculaire faible.
- 3- Thermostables au contraire aux protéines qui sont thermolabiles.
- 4- En général dérivés vitaminiques, le plus souvent du groupe hydrosoluble.
- 5- Réagissent molécule à molécule avec le substrat.
- 6- Ils n'interviennent pas dans la spécificité de fixation du substrat (rôle dévolu au à l'apoenzyme) , mais ils sont responsable de la spécificité du type de la réaction chimique catalysée ( réduction oxydation).

**Propriétés particulières des groupements prosthétiques (gt)**

- 1-Le gt. Prosthétique est lie fortement à l'apoenzyme par des liaisons covalentes.

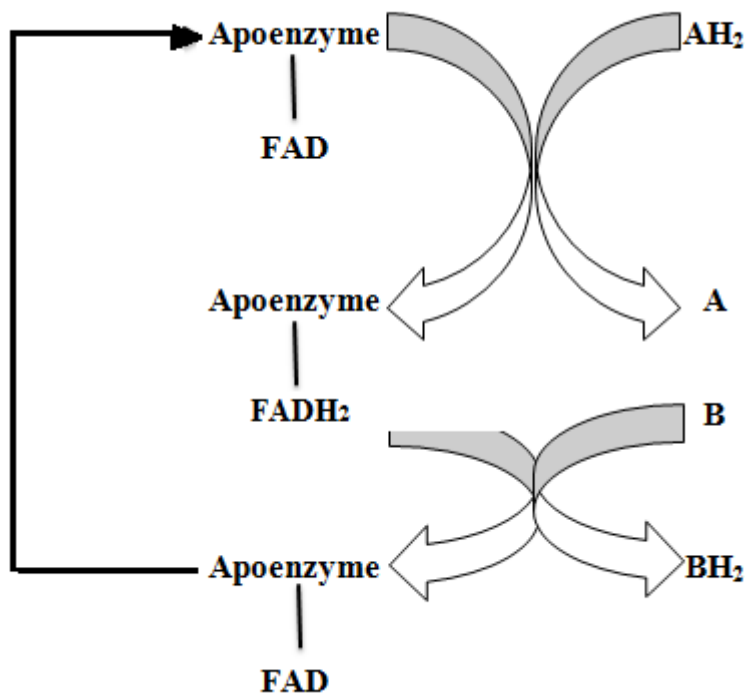
2-Ils fonctionnent dans le cadre d'une réaction enzymatique unique, qui se développe en deux(02) temps (modification structurale et retour à l'état initial).

3-En tous cas le gt. Prosthétique ne se sépare pas de l'apoenzyme.

### Propriétés particulières du cosubstrat

1-Le cosubstrat est lié faiblement à l'apoenzyme, il peut s'en dissocier par simple dialyse.

2-Le cosubstrat ne retrouve jamais son état initial en restant fixé sur l'apoenzyme, il s'en sépare et n'est régénéré que par une autre



apoenzyme dans

une seconde réaction.

Les schémas suivants présentent le fonctionnement d'un gt. Prosthétique et d'un cosubstrat.

### Schéma de fonctionnement d'un groupement prosthétique(FAD)

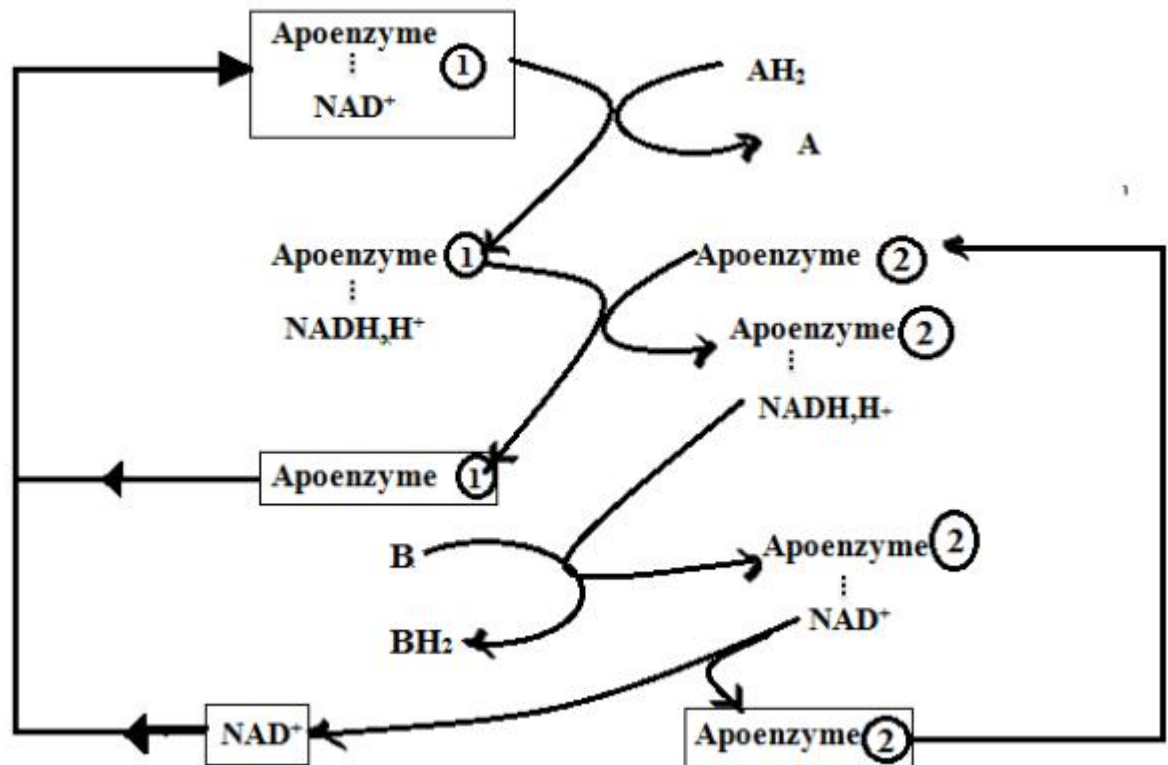


Schéma de fonctionnement d'un cosubstrat(NAD<sup>+</sup>).

### II.1.2.2 Le site actif

Le site actif ou le centre actif d'une enzyme est une zone privilégiée, située dans la zone interne hydrophobe de la protéine enzymatique au niveau de laquelle s'exerce électivement le pouvoir catalytique de l'enzyme.

Dans cette cavité se fixe transitoirement le substrat et cette brève fixation au sein même de l'enzyme est nécessaire à la réaction enzymatique.



Le site actif se compose de deux(02) compartiments (parties)

**a)-site de reconnaissance** (liaison, fixation et reconnaissance) reconnaît la complémentarité de forme avec un substrat spécifique de l'enzyme.

**b)-Site catalytique :**

Permet la réaction transformant le substrat en produit.

-Le site actif des enzymes est bordé et formé d'un certain nombre d'acides aminés : 3 à 4 agencés dans l'espace de telle sorte qu'ils acceptent le substrat avec la spécificité.

Ces acides aminés sont évidemment proches dans l'espace mais peuvent être éloignés dans l'enchaînement (structure primaire).



Les autres acides aminés ne servent qu'à maintenir dans l'espace de cette structure spatiale du site actif, nécessaire à l'activité enzymatique. Ceci a été prouvé par des expériences de protéolyse. (voir cours)

#### **II.1.2.2.1. Acides aminés du site actif**

Les acides aminés du site actif sont plus souvent :

Cystéine

Histidine (presque toujours)

Serine et lysine (souvent)

Tyrosine.

En général on distingue dans les protéines enzymatiques par ordre d'importance fonctionnelle croissante, quatre(04) groupes d'acides aminés

**A)-Les acides aminés non collaborateurs ou indifférents :** leur rôle inconnu .On peut les enlever sans réduire l'activité enzymatique (ex : la papaïne).

**B)-Les acides aminés collaborateurs ou de conformation :** l'association qu'ils constituent sert de support aux acides aminés fonctionnels, peuvent être enlevés , mais l'activité enzymatique persiste et l'enzyme devient fragile.

**C)-Les acides aminés auxiliaires :**

Ils ne contractent pas de liaison étroite avec le substrat de la réaction enzymatique, mais assurent la mobilité des zones situées au voisinage du site actif. Dans la structure tridimensionnelle de la protéine enzymatique ce sont eux qui assurent à la chaîne moléculaire une certaine flexibilité, ils peuvent avoir des effets électroniques.

**D)- Les acides aminés de contact :**

Leur rôle est capital, ils sont les composants de site actif. Ce sont eux qui contractent les liaisons avec le substrat lui-même et assurent la catalyse.

#### **II.1.3 Mécanisme d'action entre l'enzyme et le substrat :**

La réaction enzymatique fait appel à la fixation du substrat au site actif, ce dernier doit être dans une conformation spatiale telle que, le substrat puisse s'y fixer, il existe différents types de modèle de fixation :

##### **II.1.3.1 Modèle de Fischer : Clef –serrure**

Dans ce modèle, la formation du complexe Enzyme-substrat( ES) nécessite une interaction entre un ou plusieurs groupes fonctionnels ou domaines du substrat avec les motifs de la cavité enzymatique.

Ce modèle explique la spécificité de l'enzyme pour son substrat et non pas les effets des effecteurs.

### **II.1.3.2 Modèle de Koshland :**

Ajustement induit l'association enzyme-substrat et permet après une modification de la conformation de l'enzyme induite par l'entrée partielle du substrat.

### **II.1.3.3 Modèle de Strain-Jenks**

L'enzyme et le substrat lorsqu'ils ne sont pas dans le milieu présentent chacun une conformation particulière. La présence mutuelle de ces deux(02) molécules entraîne une déformation des deux partenaires (E et

+

S) de manière à ce que le substrat se fixe sur les fonctions complémentaires des acides aminés de contact du site actif.

## **II.2 Formes moléculaires des enzymes**

### **II.2.1 Enzymes monomériques**

Ce sont des enzymes ayant une structure tertiaire constituée d'une chaîne polypeptidique sécrétée sous forme de zymogène ou pro enzyme.

#### **II.2.1.1 Zymogènes**

Les enzymes zymogènes (pro enzymes) possèdent une structure conformationnelle donnée et inactive et la coupure de ses peptides entraînera une modification complète de cette structure et la nouvelle conformation possèdera l'activité enzymatique catalytique.

C'est donc un remaniement complet de la structure tridimensionnelle qui a lieu.

**Exemple Chymotrypsine :** est une enzyme protéolytique sécrétée par les cellules pancréatiques sous la forme chymotrypsinogène inactive et stockée dans les granules cellulaires.

-La chymotrypsinogène est une protéine d'une seule chaîne (monomérique) de 245 aminoacides avec cinq (05) ponts disulfirique intra-chaîne.

L'activation a lieu au moment de la digestion et se fait sous l'influence de la trypsine, elle-même activée par l'entérokinase. Cette activation est

simplement la coupure de deux(02) petits peptides de deux(02) acides aminés pour chacun.

Ces deux (02) dipeptides sont formés d'un aminoacide serine 14, arginine 15 et thréonine 147, asparagine 148.

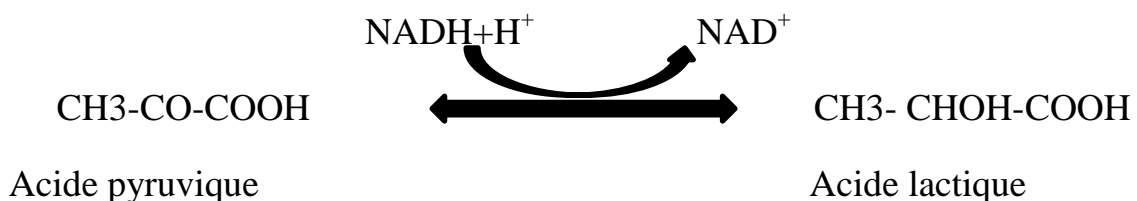
$\alpha$ - chymotrypsine est ainsi formée de trois(03) chaînes A,B et C qui sont liées par des ponts disulfuriques.

Les trois (03) chaînes vont avoir un réarrangement spatial différent qui sera la forme active. C'est cette forme qui agira seulement dans la digestion.

### II.2.1.2.Isoenzymes

Ce sont des formes moléculaires différentes d'enzymes ayant la même activité. Les iso enzymes existent dans le même individu et parfois dans la même cellule . Elles représentent des cas particuliers d'organisation hétéro polymériques dans lesquelles les différences entre variétés de protomères sont minimales, et les activités enzymatiques catalytiques sont identiques.

Un des exemples les plus connus est celui du **lactate déshydrogénase** (LDH), l'enzyme qui transforme réversiblement l'acide pyruvique en acide lactique comme suit :



Il existe cinq formes de LDH ont toutes le même poids moléculaire (PM) de 130000 environ et contiennent les chaînes polypeptidiques appelées M( pour muscle) et H( pour heart en anglais) dont l'association détermine le type de LDH ,On a :

H<sub>4</sub>(LDH1) ; M<sub>3</sub>H(LDH2) ; M<sub>2</sub>H<sub>2</sub>(LDH3); M<sub>3</sub>H(LDH4) et M<sub>4</sub>(LDH5).

M<sub>4</sub> : est trouvée essentiellement dans les muscles

H<sub>4</sub> est trouvée essentiellement dans le cœur .

Dans le fois il y a que M4.

Les chaines M et H isolées sont inactives et ont des compositions différentes en acides aminés .

### **Exemple 2 : Créatine Kinase( CK) ou Créatine phosphokinase(CPK)**

Cette enzyme existe sous trois formes de dimères pour chacune

CK1 : BB forme du cœur

CK2 :MB forme du cœur

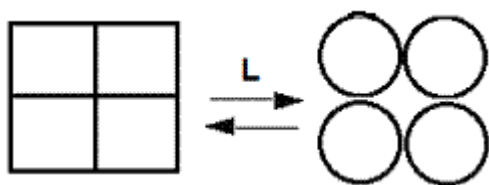
CK3 : MM forme des muscles squelettiques

### **II.2.2 Enzyme oligomériques :**

Ce sont les enzymes qui font intervenir la notion de structure quaternaire et surtout de flexibilité de la molécule protéique.

Ce sont généralement des **enzymes allostériques** et polymériques ayant des sous unités en nombre pair. Le plus souvent quatre (04) et dont l'activité enzymatique varia en fonction de la conformation de leurs monomères.

Ces enzymes peuvent exister sous deux(02) formes une active et une inactive.



Forme inactive

Forme active

Ces deux formes sont en équilibre l'une avec l'autre et sont déterminées (soit par A ou I) par la présence ou l'absence de composés appelés effecteurs ou modulateurs allostériques.

- enzymes allostériques : ce sont des enzymes ayant une double fonction :
  - une fonction catalytique.
  - une fonction régulatrice.

Cette seconde fonction est attribuée à des régulateurs qui peuvent :

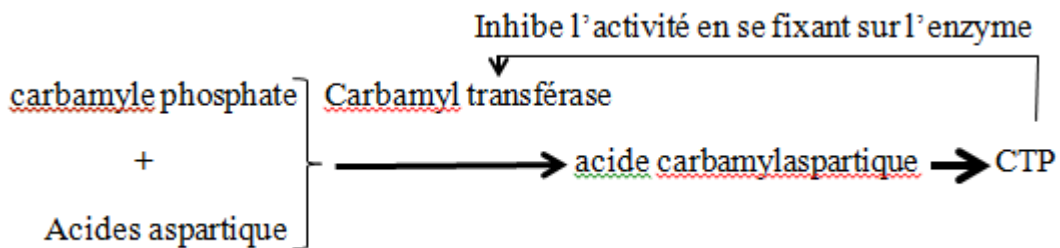
Soit activer (activateur)

Soit inhiber (inhibiteur) la fonction catalytique.

- **mDéfinition d'effecteur allostérique :**

C'est composé qui peut être de structure souvent forte éloignée de celle du substrat de l'enzyme et qui agit sur l'enzyme en l'activant ou en l'inhibant par changement de sa conformation.

**Exemple :**



### II.2.3 Complexe multienzymatiques :

On donne le nom de système polyenzymatique ( ou encore multifonctionnelles) à des systèmes protéiques complexes capables de fonctionner avec plusieurs enzymes différentes.

Il existe 3 niveaux de complexité pour ces associations enzymatiques.

- **Niveau d'organisation :**

Les enzymes soient en solution isolées mais fort proches. Aucune association physique entre elles. Ses substrats sont en général de petites molécules diffusant très vite et trouvent facilement leur chemin de l'une à l'autre enzyme.

Exemple : enzymes de la glycolyse anaérobie qui sont cytoplasmiques.

- **Systèmes plus organisés :**

Les enzymes sont associées entre elles et formant un complexe multienzymatique et fonctionnent ensemble.

Ex : l'acide gras synthétase du cytoplasme consiste en association de sept(07) enzymes sous forme d'une citrouille, chaque quartier étant une enzyme, les enzymes séparées sont inactives.

Il existe donc une interaction entre ces différentes enzymes. Une fois la molécule de départ accélérée par le complexe enzymatique, plusieurs cycles de réactions se font sans que jamais les substrats n'apparaissent dans le milieu extérieur du complexe, car le produit de réaction est immédiatement repris par l'enzyme voisine. Cette disposition est telle qu'il n'y a aucune perte de temps ni d'énergie d'une enzyme à l'autre.

- **Systèmes enzymatiques à des structures plus complexes**

Ce sont des enzymes liées aux membranes et organites (ex : mitochondrie, réticulum endoplasmique ...)

Chaîne respiratoire mitochondriale qui transportent les électrons jusqu'à l'énergie. Les enzymes individuelles sont incluses dans la membrane interne de la mitochondrie au niveau des crêtes et il est extrêmement difficile de les isoler.

