

IV- FONCTION CATALYTIQUE

Les enzymes sont des protéines globulaires solubles ou des protéines membranaires. Leur activité dépend étroitement de leur structure tridimensionnelle et de leur dynamique interne. Toute modification de cette structure, même très faible, peut entraîner d'importantes variations de l'activité catalytique, voire sa perte. Les enzymes sont les catalyseurs les plus efficaces et les plus spécifiques qui existent dans la nature, elles agissent avec de très faible quantité et sont régénérées à la fin de la réaction.

Les enzymes sont caractérisées par leur grande **efficacité catalytique** d'une part et par leur grande **spécificité** de l'autre part. L'efficacité d'action d'une enzyme est définie par l'activité moléculaire c.à.d. le nombre de molécules de substrat qu'une molécule d'enzyme peut transformer en une seconde, cette activité moléculaire peut varier de 10^2 à 10^8 s⁻¹ (les réactions enzymatiques ont des vitesses de 10^9 à 10^{20} fois plus rapides que les réactions correspondantes non catalysées).

La spécificité des enzymes est de 2 ordres, spécificité pour la réaction (glucosidase, peptidase, déshydrogénase, kinase, décarboxylase...) et spécificité pour le substrat (elles font la différence entre deux stéréoisomères par exemple).

4.1. Formation des complexes enzyme-substrat

Comprendre le mécanisme de la catalyse enzymatique signifie comprendre les mécanismes par lesquels l'enzyme abaisse la barrière d'énergie de la réaction qu'elle catalyse. L'étude de l'acte catalytique signifie l'étude des événements impliqués au cours de cet acte.

La notion de complémentarité structurale entre l'enzyme et le substrat de type **clef-serrure** a été retenue pendant longtemps, cette notion reflète une conception **statique et rigide**. Mais, actuellement et sur la base des données sur la flexibilité des protéines, particulièrement au niveau du centre actif, une vision dynamique des interactions enzymes-substrat s'impose de plus en plus. On parle beaucoup plus de la complémentarité structurale **entre l'enzyme et l'état de transition du substrat**, qui semble être le responsable à la fois de la spécificité et de l'efficacité de l'enzyme. L'affinité des enzymes est plus grande pour l'état de transition que pour l'état fondamental du substrat.

Nous allons voir les forces impliquées dans la formation du complexe enzyme-substrat puis on discutera les mécanismes de formation de ces complexes.

4.1.1. Forces intervenant dans les associations enzyme-substrat

Les forces responsables de la formation des associations enzyme-substrat sont les mêmes que celles mises en œuvre dans les associations entre des molécules simples. En fait, c'est la complexité de la structure des protéines et les effets du milieu qui font que plusieurs groupes seront impliqués et différentes forces vont intervenir pour former ces associations.

4.1.1.1. Forces d'interactions électrostatiques

Elles se produisent entre des atomes ou des groupes d'atomes qui possèdent une charge électrique **permanente**, il s'agit d'une interaction entre deux ions ou entre un ion et un dipôle permanent ou entre deux dipôles permanents. Donc c'est l'ensemble des interactions réciproques qu'exerce l'un sur l'autre dans deux systèmes chargés électriquement.

a. Interactions entre 2 ions (interactions Coulombiennes)

L'énergie d'interaction entre les charges est inversement corrélée à la distance. Si les charges sont de même signe l'énergie est positive il y'a répulsion et si elles sont de signe contraire, il y'aura attraction.

Exemple: Les charges collectées après frottement, et effet après contact. C'est le cas d'une baguette en polyéthylène avec laquelle on a frotté les cheveux, ou le toner de la photocopieuse...etc.

b. Interaction entre un ion et un dipôle

Le dipôle électrique résulte de la présence de deux charges égales mais de signe opposé séparées par une très faible distance. L'interaction électrostatique entre un dipôle et un ion est la somme des interactions de l'ion avec chacune des deux charges du dipôle. L'énergie d'interaction entre un ion et un dipôle lorsque le dipôle est libre de tourner ne représente que 40% de l'énergie d'interaction lorsque le dipôle est fixe dans sa position d'attraction optimale.

c. Interactions entre dipôles permanents (Forces de Keesom)

Il s'agit d'interactions entre molécules polaires (interaction dipôle-dipôle). En effet, deux molécules polaires possédant des moments dipolaires non-nuls (P_1 et P_2) peuvent trouver des orientations favorables pour maximiser l'attraction entre elles. Ces dipôles ont tendance à se réorienter et à s'aligner pour minimiser l'énergie d'interaction qui n'est efficace qu'à courte distance.

L'énergie de deux dipôles ne dépend pas seulement de la distance qui les sépare mais aussi de leur orientation relative. Il faut aussi tenir compte des dipôles fixes et des dipôles qui peuvent tourner librement.

4.1.1.2. Forces d'induction (*Forces de Debye*) entre molécule polaire et molécule apolaire

On peut distinguer les interactions entre un dipôle permanent et un dipôle induit (*Forces de Debye*) ou entre un ion et un dipôle induit. Ces interactions se produisent entre des molécules possédant un moment dipolaire permanent et des molécules non polaires. Le champ électrique créé par la molécule polaire déforme le nuage électronique de la molécule apolaire.

4.1.1.3. Interactions électrocinétiques (*Forces de dispersion de London*)

Des molécules ou des groupes de molécules apolaires sont susceptibles de s'attirer bien qu'ils ne possèdent apparemment aucune charge localisée. Une molécule symétrique possède à chaque instant un moment dipolaire par suite de fluctuations dans la position relative du noyau et des électrons de la couche interne. Ce dipôle instantané polarise une molécule adjacente. La seconde molécule possède alors un dipôle fluctuant qui, à son tour polarise la première molécule, ainsi s'établit un couplage entre les oscillations des électrons des deux molécules de sorte que la distribution des électrons est continuellement en faveur de l'attraction.

4.1.1.4. Interactions répulsives à courte distance

Les forces répulsives sont non-spécifiques et apparaissent chaque fois que les atomes ou les molécules se trouvent à une distance très rapprochée. C'est une répulsion entre les électrons par suite du recouvrement de deux nuages électroniques.

4.1.1.5. Liaisons hydrogène

C'est une liaison non covalente de type dipôle-dipôle entre deux molécules ou entre deux groupements de la même molécule. Elle consiste en l'interaction entre un atome donneur d'électrons (O, N, F) et un atome H accepteur d'électrons (OH, NH₂).

Elles jouent un rôle très important dans la structure III^{aire} et IV^{aire} des protéines, dans la stabilisation de la double hélice des acides nucléiques et dans la reconnaissance de petites molécules par les récepteurs (interactions moléculaires).

4.1.1.6. Interactions hydrophobes

Les molécules non polaires et peu polarisables ont tendance à se regrouper, ce qui crée une force de liaison hydrophobe. Il s'agit d'interactions entre molécules ou groupements qui ont très peu d'affinité pour l'eau. Les groupements vont se positionner de manière à présenter la plus faible surface de contact avec l'eau.

4.1.1.7. Liaison covalente

Elle résulte du partage de deux atomes d'un doublet d'électrons. Elle est parfois impliquée dans les complexes enzyme-substrat, elle intervient alors dans une étape qui suit la formation du complexe de Michaelis qui, par définition est non-covalent.

Tab 2: Récapitulatif des forces intervenant dans la formation des associations enzyme-substrat

1- Interactions électrostatiques

- a- Entre 2 ions
- b- Entre 1 ion et 1 dipôle
 - * En position fixe
 - * En position de libre rotation
- c- Entre 2 dipôles
 - * En position fixe
 - * En position de libre rotation

2- Forces d'induction

- a- Entre 1 ion et 1 dipôle induit
- b- Entre 1 dipôle et 1 dipôle induit

3- Interactions électrocinétiques

4- Interactions répulsives à courte distance

5- Liaison hydrogène

6- Interactions hydrophobes

7- Liaison covalente

4.2. Mécanismes d'association enzyme-substrat

Une image de l'association enzyme-substrat plus dynamique que le mécanisme clef-serrure invoqué au début de ce type de recherche a été progressivement élaborée. Trois hypothèses ont été proposées, l'une repose sur le modèle flexible et les deux autres reposent sur le modèle relativement rigide.

4.2.1. Théorie de l'ajustement induit

Cette théorie, décrite par Koshland est un **modèle dynamique** qui accorde une certaine flexibilité à l'enzyme. Cette théorie repose sur 3 postulats:

- * L'association enzyme-substrat induit un changement réversible, dans la géométrie de l'enzyme, dont l'amplitude varie en fonction des enzymes.
- * Une orientation bien précise doit s'établir entre les groupes catalytiques de l'enzyme et les groupes correspondant du substrat.
- * Le substrat doit induire sa propre orientation à la suite du changement géométrique qu'a subit l'enzyme.

Parler d'ajustement induit, signifie parler de la stabilisation d'une conformation qui n'existait que rarement (ou pas du tout) en absence du substrat.

Conclusion: beaucoup de preuves expérimentales indiquent l'existence de variations conformationnelles réversibles de l'enzyme après fixation du substrat.

4.2.2. Théorie des contraintes 'Rack'

C'est la plus ancienne, elle suppose une certaine rigidité relative de l'enzyme. Elle consiste à admettre que le site actif de l'enzyme a une structure complémentaire de l'état de transition plutôt que de l'état fondamental du substrat ou du produit. Le substrat en se fixant à l'enzyme se trouve dans un état contraint et la liaison à rompre subit une distorsion qui la rend plus fragile. Cette contrainte dans la géométrie du substrat aurait pour effet de déstabiliser la liaison à rompre. Donc on parle de la stabilisation de l'état de transition du substrat par l'enzyme. Autrement dit, il est plus juste de dire que la structure du site actif d'une enzyme est complémentaire de l'état de transition du substrat plutôt que de son état fondamental lors du processus catalytique.

4.2.3. Théorie du Rack Dynamique

Cette théorie est un compromis entre le concept de l'enzyme flexible (théorie des ajustements induits) et celui de l'enzyme rigide (théorie des contraintes). Cette théorie

suppose que l'enzyme soit suffisamment flexible pour subir des changements de conformation lors de la fixation du substrat, ces changements entraîneront des contraintes dans la géométrie du substrat.