



Frédéric Elie on  
ResearchGate

## Notions sur les enzymes et coenzymes

Frédéric Élie

Copyrightfrance.com

**La reproduction des articles, images ou graphiques de ce site, pour usage collectif, y compris dans le cadre des études scolaires et supérieures, est INTERDITE. Seuls sont autorisés les extraits, pour exemple ou illustration, à la seule condition de mentionner clairement l'auteur et la référence de l'article.**

« Si vous ne dites rien à votre brouillon, votre brouillon ne vous dira rien ! »  
Jacques Breuneval, mathématicien, professeur à l'université Aix-Marseille I, 1980

**Abstract :** Les enzymes ont des fonctions fondamentales dans les processus biologiques d'équilibre, de métabolisme, de réparation, de défense des organismes vivants. Ils assurent la catalyse des réactions biochimiques indispensables au maintien et développement des fonctions vitales ; on parle alors de catalyse enzymatique. Pour la comprendre, l'article présente un rappel sur les catalyseurs, et leur application spécifique aux enzymes. Dans les processus de régulation, ou encore dans certains dysfonctionnements de l'organisme, les enzymes peuvent être inhibés : nous en présentons brièvement les facteurs qui agissent dans l'inhibition enzymatique. Nous donnons aussi quelques descriptions des principales voies biologiques où les enzymes ont un rôle incontournable : métabolisme énergétique dont la voie du métabolisme des nutriments, métabolisme de la digestion, chaîne de la respiration cellulaire, intervention des enzymes dans les activités hormonales, hémostasie (équilibre dynamique du sang), signalisations et informations cellulaires, mouvements et contractions musculaires, régulation des activités géniques (dont la réparation des ADN), immunité non spécifique, régulation du système rénal et équilibre hydroélectrique de l'organisme...

### SOMMAIRE

1 – Définition

2 – Catalyse enzymatique

3 – Principaux effets des conditions physicochimiques sur la catalyse enzymatique

4 – Fonctions biologiques des enzymes

[Références](#)

### 1 – Définition (voir par exemple réf. [1])

Une enzyme est une biomolécule constituée de protéines, possédant des actions de catalyse sur des réactions biochimiques dans les cellules ou entre elles.

Si la biomolécule est un ARN, au lieu d'une protéine, qui a une action catalytique, alors elle est un **ribozyme**.

Les protéines des enzymes sont globulaires (sphéroprotéines). Les chaînes polypeptidiques de ces protéines sont repliées et forment une structure 3D. La séquence en acides aminés des enzymes détermine les propriétés des enzymes comme catalyseurs (figure 1).



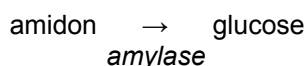
figure 1 : exemple d'enzyme, la trypsine (forme tétramère) de l'humain (source : Wikipedia)

La catalyse réalisée sur une réaction par l'enzyme a pour effet d'augmenter la vitesse de réaction par l'abaissement de son énergie d'activation. Par exemple, l'hydrolyse acide du sucrose, sans catalyse, demande une énergie de 107 kJ/mol, tandis qu'en présence d'enzyme saccharase elle tombe à 36 kJ/mol, accélérant alors la réaction d'un facteur  $10^{12}$  à la température corporelle (310 K).

En tant que catalyseur, toute enzyme ne subit aucune transformation au cours de la réaction, ni ne modifie l'équilibre chimique entre les espèces chimiques. Cependant, l'efficacité d'une enzyme peut être affaiblie par des inhibiteurs enzymatiques, ou bien augmentée par des activateurs enzymatiques. C'est le cas de certaines substances médicamenteuses ou bien des produits toxiques (poisons). L'efficacité d'une enzyme n'est stable que dans des conditions physicochimiques étroites : température, pH, pression, force ionique, viscosité précis. En-dehors d'elles l'enzyme est inopérante.

Si les enzymes ne peuvent pas agir seules sur la catalyse, mais ont besoin d'un composant non protéique pour être activées, ce composant est appelé cofacteur de l'enzyme, ou **coenzyme**. Le coenzyme peut être un composé organique, ou un composé incluant des ions métalliques. Exemple : l'hème est un cofacteur (voir réf. [2]). Les enzymes qui ne nécessitent pas de cofacteur sont appelées **apoenzymes** ou apoprotéines.

Pour agir, les enzymes doivent d'abord se lier aux molécules qui interviennent dans les réactions chimiques à catalyser : ces molécules sont des **substrats enzymatiques** ; certaines enzymes sont spécifiques aux substrats (elles ne peuvent pas agir sur des substrats différents), d'autres peuvent admettre des substrats de différentes structures. Exemple : l'enzyme amylase catalyse l'hydrolyse de l'amidon en glucose :



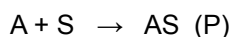
La liaison de l'enzyme sur un substrat enzymatique fait intervenir un site de liaison (**site actif**). Pour permettre cette liaison il faut :

- Une configuration géométrique qui permet aux formes de l'enzyme et de la molécule substrat de se compléter ;
- Une distribution de charges électriques (ions, électrons, polarité...) compatible avec l'acceptation de celle de l'enzyme ;
- Des propriétés semblables : hydrophobes, hydrophiles...

La liaison de l'enzyme sur le site actif n'est pas statique : elle induit une réadaptation du site actif sur toute la durée du processus de liaison (théorie de l'ajustement induit, D. Koshland, 1958), et peut entraîner une légère modification morphologique du substrat durant cette liaison (exemple : enzyme glycoside hydrolase). Les enzymes elles-mêmes ne sont pas statiques durant la liaison : différentes conformations sont générées, en équilibre dynamique mutuel.

## 2 – Catalyse enzymatique

► **Sans catalyseur**, une molécule (ici le substrat, noté S) réagit avec un réactif A en donnant directement un produit final AS, noté P, ce que l'on représente de manière simplifiée par :



La variation des quantités de matière des diverses espèces A, S, P qui participent à l'équilibre de la réaction, est donnée par la loi de Guldberg et Waage (**loi de déplacement d'un équilibre chimique**), où les concentrations molaires [...] sont liées à la constante d'équilibre K :

$$K(p, T) = \frac{[P]}{[A][S]}$$

K dépend uniquement de la température T et de la pression p, qui sont donc les facteurs thermodynamiques agissant sur le déplacement d'équilibre, suivant la **loi de van't Hoff** :

$$\frac{d}{dT} \ln K = \frac{\Delta H^0}{RT^2}$$

( $H^0$  enthalpie du système,  $R = 8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$  constante des gaz parfaits).

S'agissant de la cinétique d'une réaction sans catalyseur, la vitesse de réaction a la forme :

$$v = \frac{d[S]}{dt} = k(T)[A]^a[S]^b$$

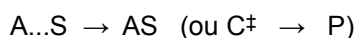
où  $k(T)$  **constante de vitesse**, qui ne dépend que de  $T$ , vérifie la loi d'Arrhenius :

$$k(T) = C \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

où  $C$  est appelé facteur pré-exponentiel, qui traduit la fréquence des collisions efficaces, et  $E_a$  est l'**énergie d'activation** : barrière d'énergie à franchir pour que les molécules  $S$  et  $A$  puissent former le produit de réaction  $AS$  ( $P$ ).

Avant de former le produit final  $AS$  ( $P$ ), les molécules  $S$  et  $A$  entrent dans un état de transition noté  $A...S$  ; celui-ci évolue ensuite vers l'état du produit final  $AS$ . L'énergie dont les réactifs ont besoin pour passer de l'état initial  $A + S$  à l'état de transition  $A...S$  est l'énergie d'activation  $E_a$ . L'état de transition  $A...S$  requiert une énergie  $E_T$  plus grande que celle  $E_i$  de l'état initial  $A + S$ , et l'énergie requise pour le produit final  $AS$ ,  $E_P$  est plus petite que celle initiale. La différence ( $E_i - E_P$ ) est l'énergie totale libérée lors de la réaction, tandis que la différence  $E_a = E_T - E_i$  est l'énergie d'activation (figure 4).

Selon la théorie du complexe activé (Eyring),  $E_a$  est l'enthalpie libre  $\Delta G$  qui sépare l'énergie entre l'état de transition  $E_T$  et celle de l'état initial  $E_i$  (figure 4). En l'absence de catalyseur, les réactifs (substrat  $S$  et  $A$ ) ont besoin d'une énergie d'activation  $E_a$  élevée pour arriver à l'état de transition d'énergie  $E_T$ , lequel évolue ensuite vers l'état de moindre énergie  $P$  (produit de la réaction). Le complexe activé  $A...S$ , noté  $C^\ddagger$ , donne le produit final  $AS$ , noté  $P$  :



avec une vitesse de réaction :

$$v = k^\ddagger [C^\ddagger]$$

où  $k^\ddagger$  est la constante de vitesse du complexe activé. Les concentrations du complexe activé  $[C^\ddagger]$  et des réactifs  $[A]$ ,  $[S]$  sont liées par une loi semblable à celle de Guldberg et Waage :

$$[C^\ddagger] = K^\ddagger [A][S]$$

mais  $K^\ddagger$  n'est pas une constante d'équilibre, mais une constante de proportionnalité (elle a la dimension de l'inverse d'une réaction). On a donc :

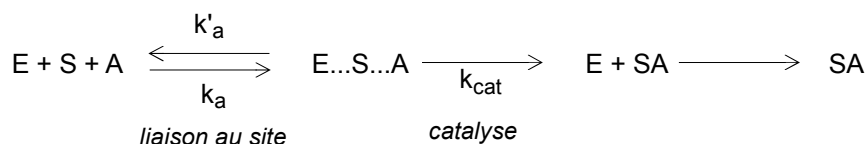
$$v = k [A][S] \quad \text{avec : } k = k^\ddagger K^\ddagger$$

En théorie d'Eyring,  $k^\ddagger$  et  $K^\ddagger$  sont déterminées avec des considérations quantiques appliquées aux statistiques de collisions des molécules. Par exemple, dans le cas simple de réactions dans une phase gazeuse bi-moléculaire, on montre que :

$$k = \sigma \left( \frac{8 k_B T}{\pi \mu} \right)^{1/2} N_A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

où  $\sigma$  est la section efficace moyenne des molécules en collision,  $k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$  est la constante de Boltzmann,  $N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$  est le nombre d'Avogadro, et  $\mu = m_{AS}/(m_A + m_S)$  la masse réduite des molécules. Plus l'énergie d'activation  $E_a$  est grande, plus la réaction est lente.

► **En présence d'un catalyseur** (par exemple une enzyme  $E$ ), les vitesses de réaction augmentent : l'équilibre est atteint plus rapidement sans modification de la composition de l'équilibre. Le substrat  $S$  est lié à l'enzyme, donnant le composé activé  $ES$  ; celui-ci requiert moins d'énergie pour former, de manière réversible, le composé de transition  $E...S...A$ , d'où résulte ensuite, de manière irréversible le complexe  $E + P$  (où  $P$  est  $SA$ ), qui est ensuite dissocié spontanément en  $E$  (enzyme) et  $P$  (produit final) (figure 2) :

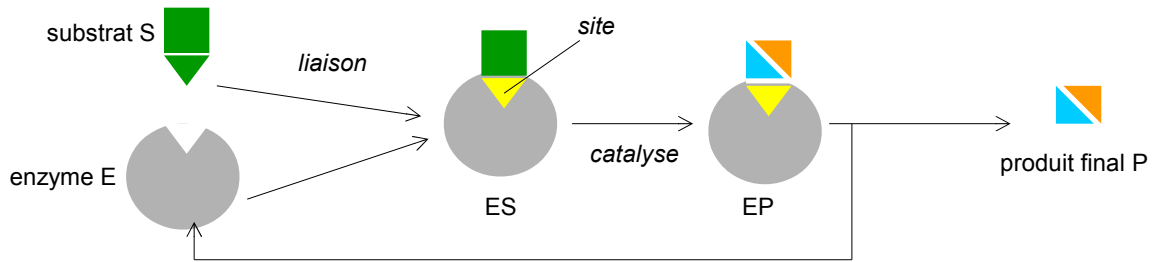


que l'on note aussi :

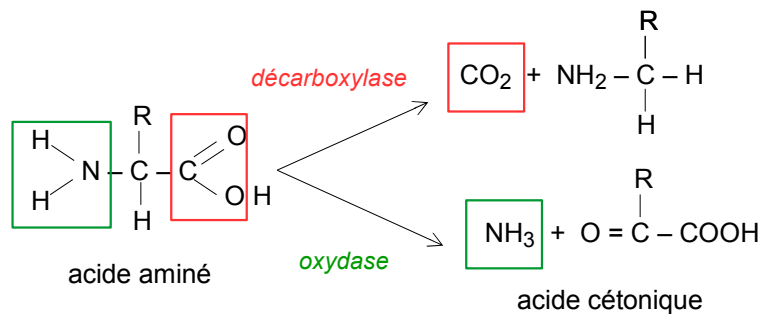


Dans le diagramme d'énergie, figure 4, son allure est celle d'une courbe en cloche où le maximum correspond à l'état de transition, mais l'énergie de la phase de transition avec catalyseur est plus petite que

celle sans catalyseur.



(a) Réaction enzymatique : l'enzyme  $E$  se lie avec le produit initial, substrat  $S$ , pour former un complexe enzyme-substrat ( $ES$ ). Par la réaction de catalyse  $ES$  donne un complexe enzyme-produit ( $EP$ ), qui se dissocie ensuite en l'enzyme  $E$  et le produit final  $P$  ; l'enzyme  $E$  est alors disponible pour une autre réaction enzymatique (processus cyclique). L'énergie d'activation correspondant à l'ensemble de ces réactions intermédiaires est de beaucoup inférieure à celle requise pour la réaction  $S \rightarrow P$  sans catalyse.



(b) Exemple d'actions de 2 enzymes spécifiques : l'enzyme *décarboxylase* catalyse le retrait du  $\text{CO}_2$  d'un acide aminé, cette action lui est spécifique. Sur ce même acide aminé, une autre enzyme, l'*oxydase*, catalyse la désamination oxydative qui donne l'acide cétonique.

figure 2 : (a) principe de réaction enzymatique  
(b) exemple de l'action conjointe de deux enzymes spécifiques

La cinétique des réactions enzymatiques en deux étapes (liaison et catalyse) ci-dessus, fait intervenir la **constante de Michaelis**  $K_M$  et la vitesse maximale  $V_{\max}$  d'une enzyme (théorie de G.E. Briggs et J.B.S. Haldane) ; on montre que la vitesse de réaction donnant le produit  $P$  ( $P$  désigne SA) est reliée à la concentration du substrat  $[S]$  par :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = \frac{[S]}{K_M + [S]} V_{\max}$$

$V_{\max}$  est la vitesse asymptotique vers laquelle la vitesse  $v$  de concentration du produit tend lorsque la concentration du substrat  $[S]$  augmente indéfiniment, et  $K_M$  est la valeur de  $[S]$  lorsque  $v = V_{\max}/2$  (figure 3).

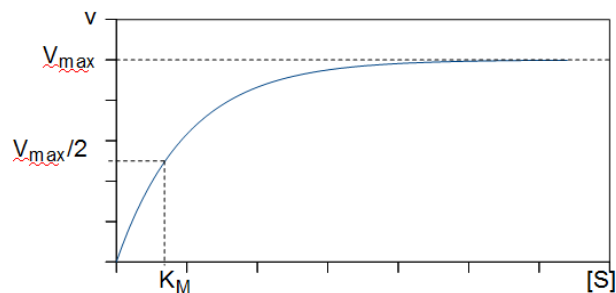


figure 3 : évolution de la vitesse de réaction  $v = d[P]/dt$  en fonction de la concentration du substrat  $[S]$  et définition de la constante de Michaelis  $K_M$

$K_M$  est généralement spécifique à chaque enzyme. Elle s'exprime avec les constantes de vitesse  $k_a$  et  $k_a'$  de

la réaction réversible  $E + S \rightleftharpoons (ES)$  et  $k_{cat}$  :

$$K_M = \frac{k_{cat} + k'_a}{k_a}$$

On montre que  $V_{max}$  est directement liée à la concentration de l'enzyme :

$$V_{max} = k_{cat} [E]$$

où  $k_{cat}$  est la **constante catalytique**, ou « *maximum turnover number* » (TON).

L'efficacité d'une enzyme est évaluée par sa **constante de spécificité**  $k_{cat} / K_M = k_{cat} k_a / (k_{cat} + k'_a)$ , qui est grande si  $k_{cat}$  est grande (catalyse efficace) et/ou si  $k_a$  est grande (liaison au site efficace).

• Unités de mesure de l'activité enzymatique : le nombre de moles par unité de temps produites lors des réactions est exprimé en **katal** (kat) :

$$1 \text{ kat} = 1 \text{ mol.s}^{-1} \text{ (unité SI)}$$

ou, en unités enzymatiques U (non SI) :

$$1 \text{ U} = 1 \mu\text{mol.mn}^{-1}$$

Elles expriment la quantité d'enzyme requise pour catalyser la réaction d'une quantité unitaire de substrat par unité de temps. Les concentrations sont exprimées généralement en unité M (non SI) :

$$1 \text{ M} = 1 \text{ mol.dm}^{-3} = 1 \text{ mol.L}^{-1}$$

En ordre de grandeur, les constantes de spécificité des enzymes sont  $k_{cat} / K_M \approx 10^5 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$  avec  $k_{cat} \approx 10 \text{ s}^{-1}$ . Dans certains cas extrêmes, elles vont jusqu'à  $10^9 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ .

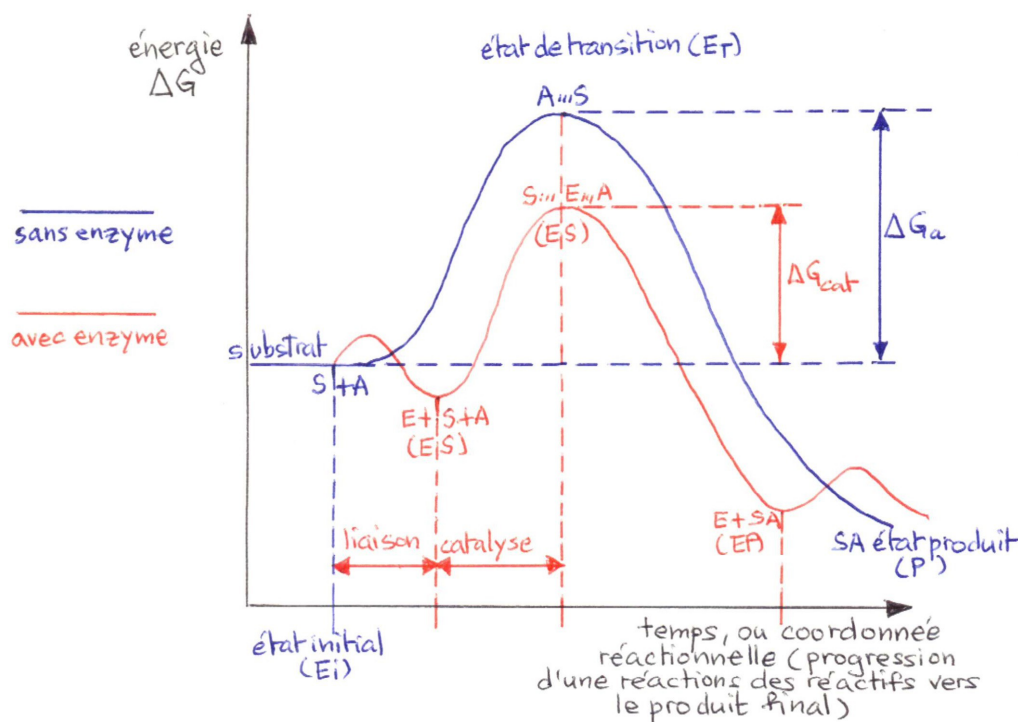
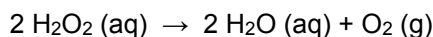


figure 4 : diagramme d'une réaction catalysée avec une enzyme (E), en présence des réactifs S (substrat) et A. L'effet de l'enzyme est de créer un environnement local où A et S atteignent l'état de transition  $S...E...A$  (ES) avec une énergie d'activation  $\Delta G_{cat}$  plus faible que celle  $\Delta G_a$  sans enzyme.

#### ► Types de catalyseurs :

• **Catalyseurs homogènes** : le catalyseur est dans la même phase que les réactifs.

Exemple : décomposition du peroxyde d'hydrogène catalysée par des ions bromure, dans une solution acide :



qui suit les réactions intermédiaires :

- a) protonisation :  $\text{HOOH} + \text{H}_3\text{O}^+ \rightleftharpoons \text{HOOH}_2^+ + \text{H}_2\text{O}$ , de  $K = [\text{HOOH}_2^+]/([\text{HOOH}][\text{H}_3\text{O}^+])$   
 b) transition :  $\text{HOOH}_2^+ + \text{Br}^- \rightarrow \text{HOBr} + \text{H}_2\text{O}$ , avec  $v = k^\ddagger [\text{HOOH}_2^+][\text{Br}^-]$   
 c) produit final  $\text{O}_2$  :  $\text{HOBr} + \text{HOOH} \rightarrow \text{H}_3\text{O}^+ + \text{O}_2 + \text{Br}^-$ , d'où :  $v = d[\text{O}_2]/dt = k^\ddagger K^\ddagger [\text{HOOH}][\text{H}_3\text{O}^+][\text{Br}^-]$   
 Sans Br on n'aurait pas obtenu  $\text{O}_2$  à partir de  $\text{H}_2\text{O}_2$  rapidement et à moindre énergie.

De nombreuses réactions organiques font intervenir des catalyses homogènes ; ce sont les catalyses acides et les catalyses basiques :

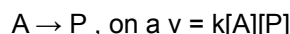
- Catalyse acide : transfert d'un ion hydrogène de l'acide A au substrat :



- Catalyse basique : transfert d'un ion hydrogène du substrat S à la base B :



- **Catalyseurs hétérogènes** : le catalyseur est dans une phase différente de celle des réactifs.
- **Autocatalyse** : c'est le produit de la réaction qui catalyse celle-ci. Dans ce cas, avec l'exemple simple suivant :



la réaction s'accélère d'autant plus que le produit est formé (mécanisme de Belousov-Zhabotinskii, BZ).

- **Catalyse enzymatique** : L'abaissement de l'énergie d'activation de la réaction est obtenu par différents processus :

- Stabilisation de l'état de transition : l'enzyme modifie l'environnement sur le site actif, de telle sorte que la distribution des charges électriques soit complémentaire de celle correspondant à l'état de transition ; on montre que l'enthalpie libre (potentiel de Gibbs G) diminue :  $\Delta G < 0$ .
- Formation par l'enzyme d'un composé intermédiaire covalent dont l'état de transition a une énergie plus faible.
- Formation par l'enzyme d'un chemin réactionnel comportant plusieurs états de transition dont l'énergie d'activation est plus faible.
- Déformation ou réorientation du substrat par l'enzyme, conduisant à un état de transition d'énergie plus faible.

### 3 – Principaux effets des conditions physicochimiques sur la catalyse enzymatique

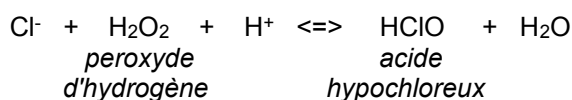
#### ► Classes d'enzymes :

Chaque enzyme est spécifique au substrat auquel elle se lie. Les enzymes sont classées dans 6 groupes principaux « EC » selon le substrat dont elles assurent la catalyse (1) :

- **EC1 : oxydoréductases**. Elles catalysent les réactions d'oxydoréduction.

Exemples :

- Catalases (EC1.11.1.6) : elles catalysent la dissociation du peroxyde d'hydrogène (en solution aqueuse : eau oxygénée), comme vu plus haut :  $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$
- Myeloperoxydases (EC1.11.2.2), ou MPO : elles catalysent la décomposition des peroxydes (exemple peroxyde d'hydrogène) en présence d'ions halogénures (exemple  $\text{Cl}^-$ ), ce qui permet l'élimination des bactéries par les granulocytes neutrophiles :



Les MPO dépendent donc des ions halogénures pour agir (halogénodépendance). Dans l'exemple, l'acide hypochloreux HClO, qui est très oxydant, détruit par stress oxydatif, la bactérie pathogène. Le peroxyde d'hydrogène résulte d'une conversion du dioxygène  $\text{O}_2$  par les granulocytes neutrophiles lors de l'activation de leur NADPH oxydase (2), qui est une enzyme. Une analyse de ce processus, ainsi que des effets pathologiques d'excès de ce stress oxydatif, est présentée par exemple en réf. [3].

- **EC2 : transférases**. Elles catalysent le transfert de groupes fonctionnels entre les substrats.
- **EC3 : hydrolases**. Elles catalysent les hydrolyses.

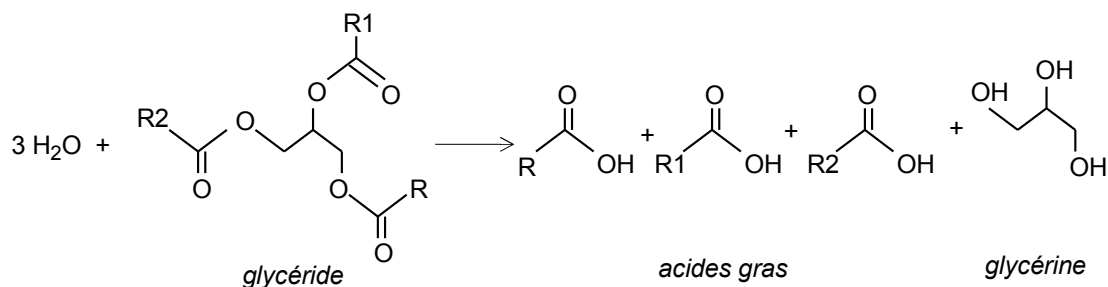
Exemples :

- Lipases (EC3.1.1.3) : elles catalysent l'hydrolyse de fonctions esters, et en particulier la

1 EC désigne le Catalogue de nomenclature des Enzymes basée sur la réaction chimique qu'elles catalysent.

2 NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate. NADP : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate ; NADPH est le résultat de la réaction de réduction du NADP :  $\text{NADP}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{NADPH} + \text{H}^+$

transformation de glycérides (ester d'acides gras)<sup>(3)</sup> en glycérol (ou glycérine HOH<sub>2</sub>C-CHOH-CH<sub>2</sub>OH) et acides gras (lipolyse) (cf. réf. [4]) :



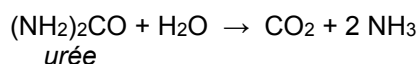
On distingue les lipases de l'estomac et celles du pancréas, leurs conditions de fonctionnement y étant différentes.

- **Amylases** (EC3.2.1.1) : elles catalysent la dissociation des polysaccharides, et participent donc au métabolisme digestif, notamment la dégradation moléculaire des glucides à longue chaîne (par exemple amidon). Les amylases sont présentes dans la salive (isoforme S) et le suc pancréatique (isoforme P). Elles sont présentes en moindre quantité dans les larmes, la sueur, le lait maternel, etc.

- **Maltases** (EC3.2.1.20) : elles catalysent l'hydrolyse du maltose <sup>(4)</sup> et des dextrines en glucose <sup>(5)</sup>.

- **Trypsines** (EC3.4.21.4) : elles catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques (voir réf. [5]) des acides aminés lysine et arginine. Elles sont synthétisées dans le pancréas, elles contribuent à la digestion.

- **Uréases** (EC3.5.1.5) : elles catalysent la transformation de l'urée en dioxyde de carbone et ammoniac :



- **Invertases** (EC3.2.1.26) : elles catalysent l'hydrolyse du saccharose en un mélange de fructose et glucose, appelé sucre inverti. Elles sont présentes dans l'intestin grêle ; elles favorisent la digestion des glucides.

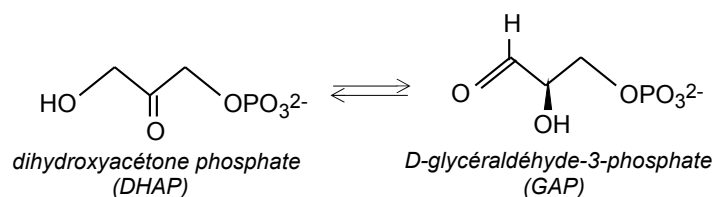
- **Pepsines** (EC3.4.23.1) : elles catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques, lors de la phase initiale de la digestion des protéines dans l'estomac (suc gastrique). Les pepsines sont synthétisées par les glandes gastriques, situées dans l'antra et le fundus, sous la forme inactive pepsinogène (précurseur inactif de l'enzyme pepsine) (voir par exemple réf. [6]).

- **EC4 : lyases**. Elles catalysent la rupture de liaisons chimiques autrement que par l'hydrolyse et l'oxydation.

- **EC5 : isomérases**. Elles catalysent les isomérisations.

Exemple :

- **Triose-phosphate isomérases** (EC5.3.1.1), ou TPI : elles catalysent la transformation du dihydroxyacétone phosphate en D-glycéraldéhyde-3-phosphate :



Le DHAP est principalement un métabolite de la glycolyse, et intervient dans le cycle de Calvin-benson-Bassham (série de réactions biochimiques participant à la photosynthèse dans le chloroplaste des plantes ou dans le cytoplasme de certaines Bactéries et Archées).

Le GAP, synthétisé depuis DHAP, via la catalyse par la TPI, intervient dans la glycolyse et la voie des pentoses phosphates (PPP) (réf. [7], [8], [9], [10]). Les TPI ont donc un rôle essentiel dans la digestion et le métabolisme des glucides.

Le défaut en TPI dans l'organisme humain cause une maladie grave : l'**anémie hémolytique chronique** (réf. [11]).

- **EC6 : ligases** (ou synthétases). Elles catalysent la formation de liaisons covalentes couplées à l'hydrolyse de l'ATP.

3 Les glycérides, qui sont des esters d'acides gras, se répartissent en monoglycérides, diglycérides, triglycérides ; voir réf. [4].

4 Le maltose est un oligoside formé de 2 molécules de glucose.

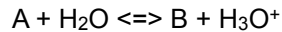
5 Dextrines : glucides de formule brute générale (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub> résultant du chauffage de l'amidon, ou de son hydrolyse acide.

► **Conditions et effets du pH** de l'environnement local sur les enzymes :

En tant que protéines, les enzymes sont formées de chaînes polypeptidiques (chaînes latérales d'acides aminés) et d'acides aminés portés aux extrémités azote N- et carbone C-.

Les groupements chimiques portés aux extrémités des acides aminés sont ionisés selon leurs  $pK_a$  et les caractéristiques d'acidité du milieu (pH).

Pour rappel (réf. [12]), dans le cas simple d'un acide moléculaire partiellement dissocié (monoacide) et d'une solution aqueuse où les ions hydronium ( $H_3O^+$ ) issus de l'eau sont négligés, la loi d'action de masse, pour la réaction équilibrée :



où A et B sont l'acide et la base conjugués, permet de définir la **constante d'acidité** :  $K_a = \frac{[B][H_3O^+]}{[A]}$

avec  $pK_a = -\log K_a$ , et le pH d'une solution de monoacide :  $pH = \frac{1}{2}(pK_a - \log[A]) = -\log[H_3O^+]$

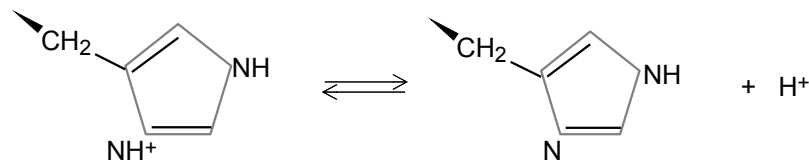
Selon leur  $pK_a$  et le pH de la solution qu'ils forment avec le milieu, les groupements d'acides aminés des enzymes s'ionisent comme suit (voir aussi réf. [5]) :

- Groupement  $\alpha$ -carboxylique :  $-COOH \rightleftharpoons -COO^- + H^+$

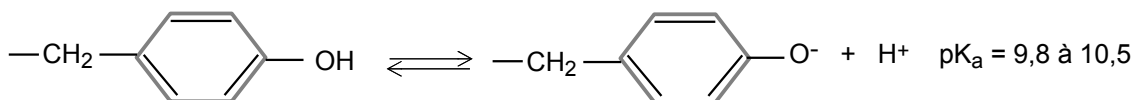
Si porté par le C- terminal :  $pK_a = 3,0$  à  $3,2$

Si porté par les acides aminés protéinogènes aspartate (Asp) ou glutamate (Glu) :  $pK_a = 3,0$  à  $5,0$ .

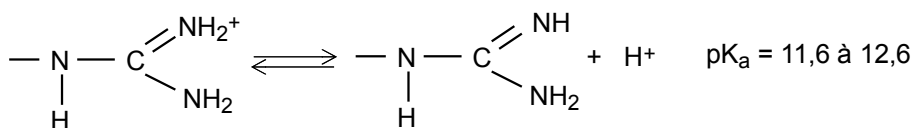
- Groupement imidazole, porté par l'acide aminé histidine (His) :



- Groupement  $\alpha$ -aminé, porté par -N terminal :  $-NH_3^+ \rightleftharpoons -NH_2 + H^+$ ,  $pK_a = 7,5$  à  $8,0$
- Groupement  $\epsilon$ -aminé, porté par l'acide aminé lysine (Lys) :  $pK_a = 9,5$  à  $10,6$
- Groupement sulfhydryle, porté par l'acide aminé cystéine (Cys) :  $-SH \rightleftharpoons -S^- + H^+$ ,  $pK_a = 8,0$  à  $8,5$
- Groupement phénol, porté par l'acide aminé tyrosine (Tyr) :



- Groupement guanidinium, porté par l'acide aminé arginine (Arg) :



La distribution des charges électriques des acides aminés peut varier selon les conditions physicochimiques du milieu (polarité, concentrations ioniques...), et agir sur la réactivité et donc la capacité catalytique de l'enzyme. Pour des pH acides ou basiques, l'activité catalytique des enzymes est fortement affectée, et elle n'est possible que sur des gammes restreintes de pH. Par exemple, pour les enzymes citées plus haut, le pH optimal est :

- Catalase : pH = 7,0
- Lipase (de l'estomac) : pH = 4,0 à 5,0
- Lipase (du pancréas) : pH = 8,0
- Amylase (forme S) : pH = 4,6 à 5,2
- Amylase (forme P) : pH = 6,7 à 7,0
- Trypsine : pH = 7,8 à 8,7
- Invertase : pH = 4,5
- Uréase : pH = 7,0

En utilisant les théories de Michaelis-Menten et de Briggs-Haldane évoquées plus haut, on montre que la vitesse de réaction catalytique d'une enzyme (ou de 1 ou plusieurs groupements acides aminés de l'enzyme) sur un substrat, passe par un maximum très marqué correspondant au pH optimal (voir par exemple références [13], [14]). Par exemple, si 2 groupements de l'enzyme, E1 et E2, participent à la liaison au

substrat S et à la catalyse, on a pour toute valeur du pH la vitesse initiale de réaction :

$$v = V_{max}^* \frac{[S]}{K_M^* + [S]} \quad (\text{équation de Michaelis-Menten})$$

où [S] est la concentration molaire du substrat,  $V_{max}^*$  et  $K_M^*$  la vitesse maximale apparente et la constante apparente de Michaelis (ou constante de saturation) données par :

$$V_{max}^* = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[H^+]}{K_{SE1}} + \frac{K_{SE2}}{[H^+]}} \quad , \quad K_M^* = K_M \frac{1 + \frac{[H^+]}{K_{E1}} + \frac{K_{E2}}{[H^+]}}{1 + \frac{[H^+]}{K_{SE1}} + \frac{K_{SE2}}{[H^+]}}$$

où  $K_{En}$  ( $n = 1, 2$ ) et  $K_{SEn}$  sont les constantes de Michaelis pour le groupe  $n = 1$  ou  $2$  d'acides aminés de l'enzyme, à l'état libre (En) ou à l'état lié au substrat (SEn), et avec :  $pH = -\log [H^+]$ ,  $pK_{SEn} = -\log K_{SEn}$  et  $pK_{En} = -\log K_{En}$ .

Si la liaison au substrat S n'affecte pas les constantes de dissociation des groupements, la variation de pH n'agit pas sur  $K_M$ . Si ces constantes de dissociation pour la forme libre En et les formes liées ESn sont différentes alors :

- en pH acide :  $K_M^* = K_M \frac{K_{SE1}}{K_{E1}}$
- en pH basique :  $K_M^* = K_M \frac{K_{E2}}{K_{SE2}}$

et  $K_M^*$  varie entre ces deux extrêmes. On montre, en faible  $[H^+]$ , que :  $\log \frac{V_{max}^*}{V_{max}} = pH - pK_{SE1}$  et en forte

$[H^+]$ , que :  $\log \frac{V_{max}^*}{V_{max}} = pK_{SE2} - pH$ . Le pH optimal est donné par :

$$pH_{optimal} = \frac{1}{2}(pK_{E1} + pK_{E2})$$

En pH basique, lorsque  $[H^+]$  augmente,  $v$  augmente et favorise les formes En et SE<sub>n</sub>. Lorsque le pH optimal est atteint,  $v$  est maximale puis, lorsque  $[H^+]$  continue d'augmenter,  $v$  décroît (figure 5).

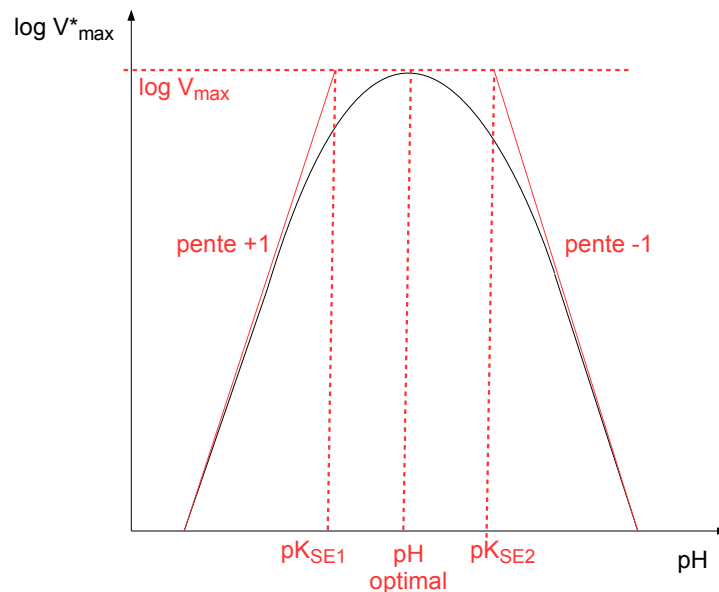


figure 5 : variation de la vitesse de réaction enzymatique en fonction du pH (courbe de Dixon-Webb)

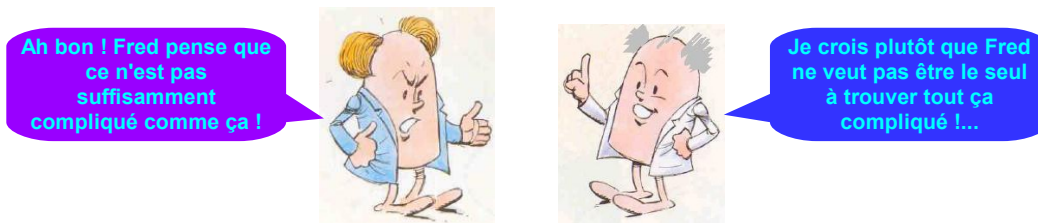
La variation du pH modifie l'activité des enzymes. Généralement, les pH acides (très faibles) et basiques (élevés) inhibent totalement les réactions enzymatiques. Ainsi existe-t-il pour chaque enzyme une gamme de

pH très étroite, comprise entre  $pK_{SE1}$  et  $pK_{SE2}$ , sur laquelle la vitesse est maximale.

Dans les cas fréquents où le substrat S est ionisé lors de la réaction, on montre dans l'équation de Michaelis-Menten, que les  $V_{max}^*$  et  $K_M^*$  sont (pour deux groupements S1 et S2 ionisés dans le substrat) :

$$V_{max}^* = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[H^+]}{K_{SE1}} + \frac{K_{SE2}}{[H^+]}} \quad , \quad K_M^* = K_M \frac{\left(1 + \frac{[H^+]}{K_{E1}} + \frac{K_{E2}}{[H^+]}\right) \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{SE1}} + \frac{K_{SE2}}{[H^+]}\right)}{1 + \frac{[H^+]}{K_{SE1}} + \frac{K_{SE2}}{[H^+]}}$$

La situation se complique selon le mode de liaison de l'enzyme au substrat S :



- Si la liaison est assurée seulement par E1 et si le produit final P est formé à partir de SE1 :

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]_0}{K_M \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{E1}} + \frac{K_{E2}}{[H^+]} + [S]_0\right)}$$

- Si la liaison est assurée par E1 et E2 et si SE1 seul donne P (seul le complexe SE1 est actif) :

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]_0}{K_M \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{E1}} + \frac{K_{E2}}{[H^+]}\right) + [S]_0 \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{SE1}}\right)}$$

- Si la liaison est assurée par E1 et E2 et si SE1 et SE2 donnent P (2 complexes SE1 et SE2 actifs) :

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]_0}{K_M \frac{1 + [H^+]/K_{E1} + K_{E2}/[H^+]}{1 + \gamma K_{SE2}/[H^+]} + [S]_0 \frac{1 + [H^+]/K_{SE1} + K_{SE2}/[H^+]}{1 + \gamma K_{SE2}/[H^+]}}$$

où  $\gamma = \frac{k_{catSE1}}{k_{catSE2}}$ , avec  $\gamma > 1$  lorsque SE1 est plus actif que SE2.

- Évidemment, le cas fréquent où plus de deux groupements d'acides aminés E1, E2, ... En participent à la catalyse est plus complexe à décrire, et ne suit plus la cinétique de Michaelis-Menten (voir par exemple réf. [15]).

### ► Conditions et effets de la température :

La température modifie les interactions entre les molécules et entre celles-ci et le solvant. Dans le cas des enzymes, ces interactions ont des effets sur leur structure et, par conséquent, sur la forme du site actif où la liaison enzyme / substrat s'effectue. La modification de la forme du site agit sur cette liaison et sur la séparation du produit final P et de l'enzyme E : cela se traduit par une modification des différentes constantes d'équilibre. À partir de la relation de van't Hoff mentionnée plus haut, on obtient en effet pour une variation de température  $T_1$  à  $T_2$  :

$$\log \frac{K(T_2)}{K(T_1)} = pK(T_1) - pK(T_2) = \frac{\Delta H^0}{2,303 R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

où  $\Delta H^0$  est la variation d'enthalpie du système.

Les modifications du site ont aussi des effets sur la réactivité des groupements d'acides aminés qui participent à la catalyse, donc sur les constantes de vitesse  $k_a$  (pour  $E + S \rightarrow ES$ ) et  $k_{cat}$ , constante catalytique (pour  $ES \rightarrow E + P$ ). Comme indiqué plus haut, l'enzyme E et le substrat S interagissent en donnant, non pas ES mais le complexe activé  $ES^\ddagger$  noté  $C^\ddagger$ , qui donne à son tour le produit final P. Comme la concentration du complexe activé  $C^\ddagger$  est proportionnelle à la concentration initiale des composés E et S qui réagissent, l'équilibre de la réaction vérifie la relation de Guldberg et Waage :

$$[C^\ddagger] = [ES^\ddagger] = K^\ddagger [E]_0 [S]_0$$

où  $K^\ddagger$ , assimilée à une constante d'équilibre, varie avec la température selon la relation de Gibbs :

$$K^\ddagger = \exp\left(-\frac{\Delta G_0^\ddagger}{RT}\right)$$

où  $\Delta G_0^\ddagger$  est la différence d'enthalpie libre d'activation de la réaction de liaison de l'enzyme au substrat S.

Pour la réaction  $C^\ddagger \rightarrow P$  d'autre part, la loi cinétique s'écrit :  $v = \frac{d[P]}{dt} = k^\ddagger [C^\ddagger]$  comme vu plus haut,  $k^\ddagger$  étant la constante de vitesse du complexe activé. Des trois relations précédentes il vient pour la vitesse de formation du produit final :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k^\ddagger [E]_0 [S]_0 \exp\left(-\frac{\Delta G_0^\ddagger}{RT}\right)$$

ce qui montre que la réaction est d'autant plus lente que T est basse ou que  $\Delta G_0^\ddagger$  est grande. On montre, à partir de considérations quantiques et de thermodynamique statistique, que la constante catalytique est reliée à la température T selon :

$$k_{cat}(T) = \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{\Delta G_0^\ddagger}{RT}\right)$$

où  $k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$  constante de Boltzmann,  $h = 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ J.s}$  constante de Planck,  $\Delta G_0^\ddagger$  (énergie d'activation de la réaction catalysée  $ES^\ddagger \rightarrow P$ ) de l'ordre de  $71 \text{ kJ.mol}^{-1}$ . Cette relation montre que :

- la vitesse de réaction enzymatique diminue si  $\Delta G_0^\ddagger$  augmente,
- la vitesse de réaction enzymatique augmente si T augmente, mais pas indéfiniment : il existe une température optimale spécifique à chaque enzyme, dite d'inactivation  $T_i$ , au-delà de laquelle la réaction est désactivée à cause de la dénaturation de l'enzyme (la dénaturation est un processus irréversible). L'énergie de dénaturation  $E_i$  est supérieure à  $\Delta G_0^\ddagger$ , il s'ensuit que, lorsque T augmente, la vitesse de dénaturation de l'enzyme devient plus grande que la vitesse de catalyse : d'où l'existence d'une température optimale séparant le domaine d'activation et le domaine de dénaturation thermique (figure 6).

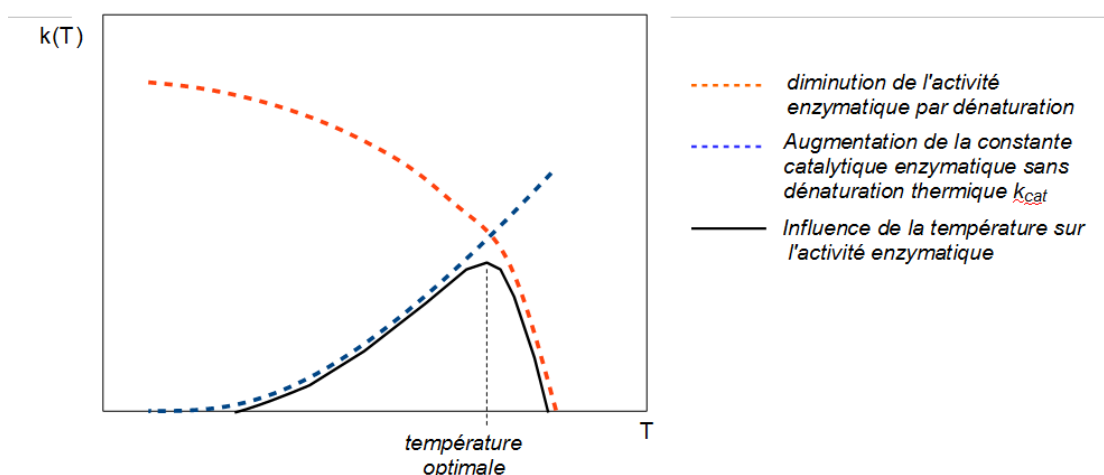


figure 6 : évolution de l'activité enzymatique avec la température

#### ► Effets de la pression :

La pression agit sur l'activité enzymatique à deux niveaux :

a) sur la constante d'équilibre et la constante catalytique ;

b) sur la liaison de l'enzyme au substrat.

• Effet de la pression **sur la constante d'équilibre et la constante catalytique** :

La pression  $p$  se traduit par une énergie, un travail, due à la variation de volume  $\Delta V$  entre deux états d'équilibre :  $\Delta G = p\Delta V$ , la constante d'équilibre est alors :

$$K(p) = K(p_0) \exp\left(-\frac{p \Delta V}{RT}\right)$$

où  $K(p_0)$  est la constante d'équilibre à la pression atmosphérique. Cette dépendance concerne l'équilibre entre les deux états : celui du système  $E+S$  et celui du composé issu de la liaison enzyme / substrat  $ES$  qui est réversible (il peut se redissocier en  $E+S$ ) (figure 4). Pour l'étape de transformation du composé  $ES$  en complexe de transition ( $ES^\ddagger$ ) (voir figure 3), la cinétique est déterminée par  $k_{cat}$ , selon une dépendance en pression similaire à la première étape, mais où la variation de volume  $\Delta V_{cat}^\ddagger$  est l'écart entre le volume à l'état  $ES^\ddagger$  et celui à l'état  $ES$  :

$$k_{cat}(p) = k_{cat}(p_0) \exp\left(-\frac{p \Delta V_{cat}^\ddagger}{RT}\right)$$

avec  $\Delta G_{cat}^\ddagger = p\Delta V_{cat}^\ddagger$  à température  $T$  constante.

La variation de volume entre l'état actif  $ES$  et l'état d'activation  $ES^\ddagger$  est positive  $\Delta V_{cat}^\ddagger > 0$  : le volume de  $ES^\ddagger$  est plus grand que celui de  $ES$  suite à la présence de collisions, et quand  $p$  augmente  $k_{cat}$  diminue, et donc la vitesse de la catalyse diminue, la catalyse est ralentie.

• Effet de la pression **sur la liaison de l'enzyme E au substrat S** : SE

La cinétique de la réaction de fixation de l'enzyme au substrat :  $E + S \rightleftharpoons SE$ , fait intervenir la constante de Michaelis  $K_M$ , comme vu plus haut :

$$v = k_{cat}[E]_0 \frac{[S]_0}{K_M + [S]_0}$$

or :

$$\left(\frac{\partial \ln k_{cat}}{\partial p}\right)_T = -\frac{\Delta V_{cat}^\ddagger}{RT}$$

donne la relation entre la variation de volume de la réaction enzymatique  $\Delta V^\ddagger$  en fonction des variations de volume de la réaction catalytique  $\Delta V_{cat}^\ddagger$  et de la réaction de liaison enzyme/substrat  $\Delta V_{liaison}$  :

$$\Delta V^\ddagger = \Delta V_{cat}^\ddagger - \frac{K_M}{K_M + [S]_0} \Delta V_{liaison}$$

où la concentration initiale du substrat  $[S]_0$  intervient. Selon la valeur de celle-ci on a :

$$\blacksquare [S]_0 \ll K_M \rightarrow \Delta V^\ddagger \approx \Delta V_{cat}^\ddagger - \Delta V_{liaison}$$

$$\blacksquare [S]_0 \gg K_M \rightarrow \Delta V^\ddagger \approx \Delta V_{cat}^\ddagger$$

Selon le signe de  $\Delta V^\ddagger$  la pression agit dans le sens d'une diminution ou bien d'une augmentation de la vitesse de réaction de liaison, notamment avec de faibles  $[S]_0$ .

Pour des  $[S]_0$  grandes devant  $K_M$ , on a  $\Delta V^\ddagger > 0$  comme dans l'effet de la pression sur la constante catalytique, où l'on a vu qu'une pression  $p$  élevée entraîne un ralentissement de la catalyse.

► **Effet de la viscosité de l'environnement local** :

La viscosité du milieu traduit les frottements que les réactifs subissent de la part du milieu. Soit  $\eta$  la viscosité dynamique du milieu (solvant), on montre que :

$$k_{cat} = \frac{1}{\eta} \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (\eta \text{ est en Pa.s})$$

L'augmentation de la viscosité entraîne alors un ralentissement de la cinétique de catalyse enzymatique. Il en est de même pour la réaction de liaison de l'enzyme au substrat.

La viscosité peut être utilisée pour moduler la réactivité de la catalyse enzymatique, au moyen de substances telles que glycérol, éthylène glycol, etc.

### ► Inhibiteurs enzymatiques :

Ils bloquent l'activité de l'enzyme. Ils sont soit non spécifiques à l'enzyme, comme c'est le cas des métaux lourds, soit spécifiques. Les deux principales sortes d'inhibition spécifique sont :

● **Inhibition compétitive** : le substrat S, compatible avec la liaison à l'enzyme, est en compétition avec d'autres molécules S' qui n'appartiennent pas au substrat, mais qui sont également compatibles avec la liaison. La liaison de S ou de S' avec l'enzyme dépend de leurs concentrations respectives : si la constante de Michaelis pour la liaison à S',  $K'_M$ , est plus grande que celle  $K_M$  pour la liaison à S, alors c'est la liaison ES' qui est privilégiée et bloque celle ES (figure 7).

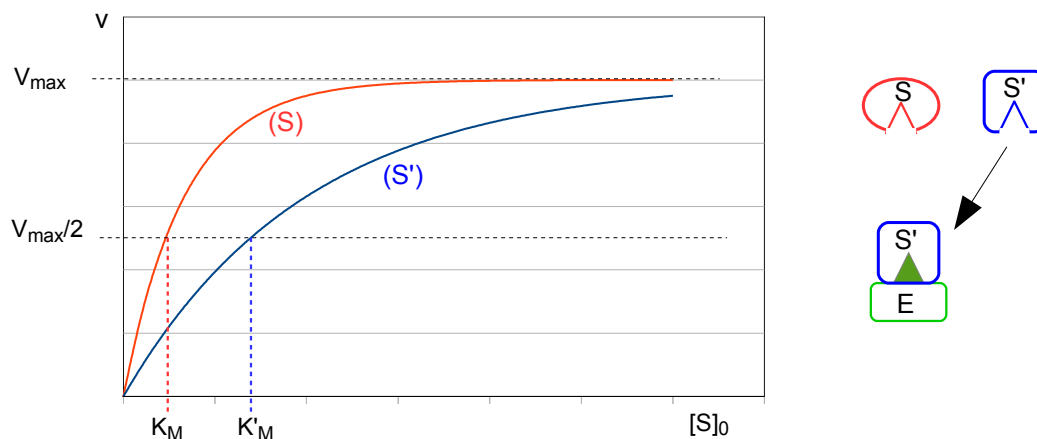


figure 7 : action de l'inhibiteur compétitif

Exemples :

■ Chez les Bactéries la catalyse enzymatique de l'intégration de l'acide para-aminobenzoïque (PABA,  $H_2NC_6H_4CO_2H$ ) dans l'acide folique (vitamine B9) est bloquée par les molécules de structure analogue à celle des sulfones ( $R-S(=O)_2-R$ ) qui constituent l'enzyme. Cette intégration est nécessaire à la synthèse des nucléotides purines, qui ne peut donc pas avoir lieu à cause de cette inhibition compétitive. Les inhibiteurs de cette synthèse, analogues structuraux des sulfones, sont utilisés comme antibiotiques.

■ Le tétrahydrofolate est la forme biologiquement active du coenzyme acide tétrahydrofolique (THFA,  $C_{19}H_{23}N_7O_6$ ) qui dérive de l'acide folique (ou vitamine B9). Le tétrahydrofolate intervient dans la synthèse des acides aminés et des acides nucléiques, ou nucléotides (notamment les purines). Il est produit à partir du dihydrofolate dans une réaction catalysée par l'enzyme dihydrofolate réductase (DHFR, EC1.5.1.3). Or, en présence du méthotrexate (MTX,  $C_{20}H_{22}N_8O_5$ ), dont la structure est très proche de celle de la dihydrofolate réductase, la catalyse enzymatique est inhibée par inhibition compétitive. Le méthotrexate est donc un poison cellulaire qui empêche la synthèse des nucléotides. Par cette propriété, le méthotrexate est utilisé comme anticancéreux.

● **Inhibition allostérique** : l'inhibiteur n'a pas une structure analogue à celle du substrat auquel l'enzyme peut se lier. Il se fixe sur un autre site de l'enzyme, et cette fixation a pour effet de changer la conformation de l'enzyme et, par suite, les propriétés du site de liaison et l'activité enzymatique.

Exemple :

■ L'inhibition allostérique est l'un des procédés de la régulation de la synthèse de protéines par les protéines elles-mêmes. C'est le cas de la synthèse de la L-isoleucine chez la Bactérie *Escherichia Coli* : cette synthèse est réalisée à partir de la L-thréonine grâce à la catalyse par l'enzyme threonindesaminase (E1) qui permet la désamination de la L-thréonine. Une succession de réactions catalysées par des enzymes E2, E3, E4, E5 conduit ensuite à la formation de la L-isoleucine. Mais cette protéine contient un site pouvant se lier à la L-thréonine sur un site différent de celui compatible avec l'enzyme initiale (E1), ce qui induit l'inhibition allostérique de la désamination par le produit final lui-même (figure 8).

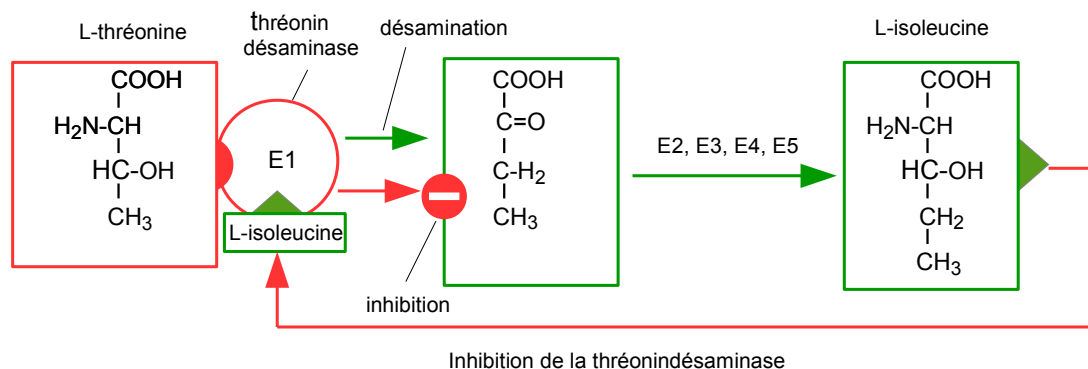


figure 8 : inhibition allostérique de l'activité d'une enzyme par une protéine issue de la chaîne de synthèse catalysée par cette enzyme

Les inhibiteurs enzymatiques ont une fonction importante dans la régulation des voies métaboliques de l'organisme (comme par exemple le cycle de Krebs)<sup>(6)</sup>. Celles-ci sont généralement initialisées par des enzymes. Lorsque les molécules produites par ces voies sont en excès, les inhibiteurs bloquent les enzymes et entraînent ainsi, par rétroaction négative, la stabilisation de la concentration des molécules.

Mais il existe aussi des inhibiteurs enzymatiques qui n'interviennent pas dans la régulation métabolique : ce sont des **poisons**. Par exemple, le cyanure  $\text{CN}^-$  se lie au cuivre et au fer du site actif de l'enzyme cytochrome-c-oxydase, bloquant son activité dans la voie métabolique de la respiration cellulaire.

### ► Effets de la force ionique

Dans une solution dite idéale, l'interaction entre les ions est supposée homogène. Dans une solution aqueuse réelle, et lorsque les concentrations sont élevées, pour prendre en compte l'influence des autres composants sur les interactions auxquelles participe chaque composant A de la solution, on remplace sa concentration molaire  $[A]$  par une concentration corrigée, appelée **activité** de A :

$$[A]^* = \gamma_A [A]$$

où  $\gamma_A$  est le coefficient d'activité pour le composant A (nombre sans dimension ;  $[A]$  et  $[A]^*$  sont en  $\text{mol.L}^{-1}$  ou M) ; pour une solution réelle  $\gamma_A < 1$ , et pour une solution idéale  $\gamma_A = 1$ .

$\gamma_A$  dépend des concentrations de toutes les espèces chimiques de la solution, par l'intermédiaire de la **force ionique** de la solution :

$$I = \frac{1}{2} \sum_k C_k z_k^2$$

où  $C_k = [A_k]$  concentrations des espèces chimiques  $A_k$ ,  $z_k$  la valence de l'ion formé par  $A_k$  dans cette concentration ;  $z_k$  est un nombre sans dimension et  $C_k$  est exprimée en M. Le coefficient d'activité pour le composant A dépend de la force ionique :  $\log \gamma_A = f(I)$ . Cette relation fait l'objet de divers modèles selon les gammes de valeurs, parmi eux il y a la relation de Debye-Hückel :

$$\log \gamma_A = -B(T) z_A^2 \frac{\sqrt{I}}{1 + a(A) B'(T) \sqrt{I}}$$

où  $z_A$  valence de l'ion formé par A,  $a(A)$  constante fonction de l'ion A,  $B(T)$  et  $B'(T)$  constantes fonctions de la température T (par exemple, à  $25^\circ\text{C}$ ,  $B(T) = 0,51 \text{ mol}^{-1/2}\text{L}^{1/2}$ ).

Les équations d'équilibre sont applicables à condition de remplacer les concentrations par les activités. Par exemple, l'équilibre ionique de l'eau s'écrit :  $[\text{H}^+][\text{OH}^-] = K_e$ , avec  $\text{p}K_e = 14,00$  à  $25^\circ\text{C}$ .

Exemple :

■ Solution aqueuse contenant les ions de  $\text{CaCl}_2$  : la dilution donne les ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $2\text{Cl}^-$ , donc les valences sont  $z(\text{Ca}) = +2$  et  $z(\text{Cl}) = -1$ . Si ces ions sont dans la solution avec la même concentration que le composé initial, par exemple  $[\text{CaCl}_2] = 0,1\text{M}$ , alors  $C(\text{Ca}^{2+}) = 0,1\text{M}$  et  $C(2\text{Cl}^-) = 2 \times 0,1\text{M}$ , ce qui donne :

$$I = \frac{1}{2} (C(\text{Ca}^{2+}) z^2(\text{Ca}) + C(\text{Cl}^-) z^2(\text{Cl})) = \frac{1}{2} (0,1 \times 2^2 + 2 \times 0,1 \times (-1)^2) = 0,3 \text{ M}$$

Lorsqu'une enzyme est dans une solution, elle est active seulement si elle y est soluble : elle est alors en

6 Références [16], [2], [4], [17], [18].

interaction avec les molécules d'eau par hydratation. La présence de sel dans la solution, avec une concentration plus élevée que celle de l'enzyme, entraîne que l'eau interagit uniquement avec le sel au détriment de l'enzyme : celle-ci n'est pas hydratée et est séparée du solvant ; c'est le phénomène de « **salting-out** » ou relargage, entraînant l'absence d'activité de l'enzyme.

Il existe donc une dépendance entre la force ionique  $I$  du sel et la solubilité  $s$  d'une enzyme dans une solution saline ; on montre que :

$$\ln\left(\frac{s}{s_0}\right) = \frac{1}{2} \frac{z_A z_B \sqrt{I}}{1+B\sqrt{I}} - K_s I$$

où  $s_0$  solubilité de l'enzyme en l'absence de sel,  $B$  constante dépendant de l'enzyme, de la température  $T$ , et du pH de la solution,  $z_A$  et  $z_B$  valences des ions du sel,  $K_s$  coefficient de relargage. Les interactions entre l'enzyme, l'eau et le sel dépendent :

- de la conformation de l'enzyme, qui agit sur la distribution des charges à sa surface ;
- des propriétés des ions issus du sel.

La relation ci-dessus est illustrée pour la solubilité d'une enzyme dans une solution contenant différents sels (figure 9).

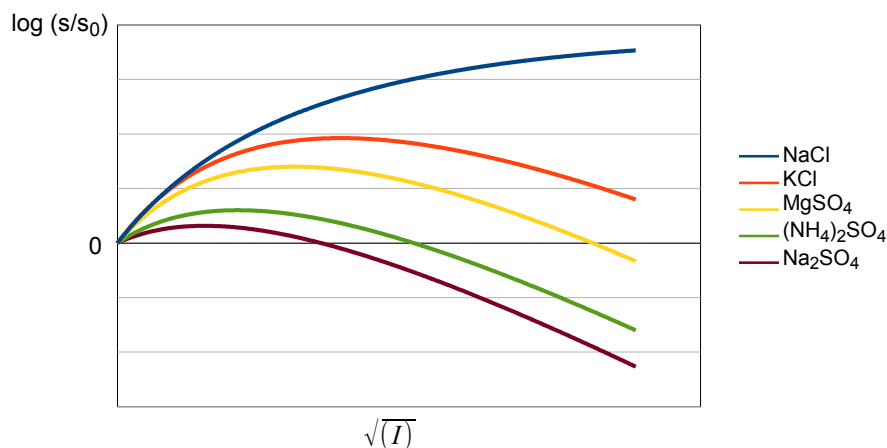


figure 9 : allure des courbes de solubilité des enzymes en fonction de la force ionique pour différents sels

La force ionique agit aussi sur l'activité des enzymes présentes dans la solution : la liaison des enzymes aux substrats dépend de la composition et de la concentration des ions de la solution, parce que ceux-ci interagissent avec les charges des enzymes et des sites de liaison. Si la solution contient les espèces chimiques  $A_1, A_2, \dots, A_n$  de coefficients d'activité  $\gamma_1, \gamma_2, \dots, \gamma_n$ , la constante de vitesse de la réaction est :

$$k = k_0 \frac{\gamma_1 \gamma_2 \dots \gamma_n}{\gamma^\ddagger}$$

où  $\gamma^\ddagger$  est le coefficient d'activité de l'état de transition dans les conditions standard, et  $k_0$  la constante de vitesse dans les conditions standard. On montre, dans le cas de 2 molécules  $A$  et  $B$  réactives dans la solution, à partir de la relation de Debye-Hückel, et pour des solutions de faible force ionique ( $I < 0,01$  M), et quasi idéales ( $\gamma^\ddagger \approx 1$ ), que la constante catalytique varie avec la force ionique selon :

$$\ln\left(\frac{k_{cat}}{k_{cat0}}\right) \approx A z_A z_B \sqrt{I}$$

où  $k_{cat0}$  constante catalytique à force ionique nulle  $I = 0$ ,  $z_A$  et  $z_B$  valences des molécules participant à la réaction catalytique (enzyme  $E$  et substrat  $S$ , groupements  $E_1, E_2, \dots$  de l'enzyme, etc.). Si  $z_A z_B > 0$  (valences de même signe),  $k_{cat}$  et donc la vitesse de réaction augmentent avec la force ionique ; si  $z_A z_B < 0$  (valences de signes opposés),  $k_{cat}$  et donc la vitesse de réaction diminuent quand la force ionique augmente.

#### 4 – Fonctions biologiques des enzymes

Les enzymes sont présentes dans les êtres vivants et les virus, et contribuent à des fonctions importantes à divers niveaux : cellulaires, mouvements, énergétiques, génétiques, nutritives et digestives, défensives, immunitaires, etc. Exemples :

### ► Dans le métabolisme énergétique :

L'apport d'énergie dans la cellule vivante provient de l'oxydation biologique de l'hydrogène, qui n'est en rien une combustion, mais plusieurs voies oxydatives où des enzymes interviennent dans des conditions spécifiques, avec, certes, dégagement de chaleur. En sortie de ces voies, le  $\text{CO}_2$  est produit avec un gain énergétique relativement faible ; le gain énergétique résulte des différentes étapes de ces voies énergétiques et non de réactions uniques exothermiques comme la combustion.

Le métabolisme énergétique est l'ensemble des voies de transformation des composés très énergétiques (par exemple les glucides) en composés moins riches en énergie, avec simultanément production de travail et de chaleur. Le travail est utilisé pour la synthèse des composés biochimiques de l'organisme.

Les composés énergétiques (éléments nutritifs) utilisés par l'organisme possèdent des liaisons C-H dont la stabilité est maintenue par la photosynthèse chez les plantes et chez les Bactéries photosynthétiques, ou par chimiosynthèse chez les Bactéries hétérotrophes et autotrophes et le règne animal.

Dans l'énergie potentielle des composés énergétiques, une partie seulement est utilisable en travail : c'est l'**enthalpie libre** (ou fonction de Gibbs)  $\Delta G$ . En l'absence de travail, l'énergie libérée par les éléments nutritifs est entièrement sous forme de chaleur ; celle-ci ne peut pas cependant être utilisée par l'organisme pour être transformée en travail puisque le processus de synthèse ne sont pas caloriques (dépendants de la chaleur) mais dépendent très fortement des propriétés physiques et chimiques de leurs environnements dans l'organisme (caractère chimio-dynamique).

Les transformations de l'énergie potentielle en travail s'effectuent toujours localement, à l'emplacement où le produit est synthétisé, puisque  $\Delta G$  n'est pas transportable. Le transfert d'énergie en un autre emplacement dans l'organisme est seulement possible par l'intermédiaire de l'adénosine triphosphate (ATP)<sup>(7)</sup>. Par exemple, l'enzyme phosphoryle-créatine transférase permet le transfert du phosphagène à l'ATP dans le processus de la contraction musculaire (réf. [2]).

Les principales sources d'énergie primaires sont les protéines, les glucides, les lipides, qui, dans la phase digestive, sont transformées respectivement en acides aminés (réf. [5]), monosaccharides (réf. [19]), glycérols et acides gras (réf. [4]) (figure 10).

Les lipides et glucides sont, en présence d' $\text{O}_2$ , entièrement décomposés en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ . Leur valeur calorifique des réactions physiologiques conduisant à cette dégradation,  $\text{VC}_{\text{physio}}$ , est donc équivalente à leur valeur calorifique physique  $\text{VC}_{\text{comb}}$  qui est l'énergie de leur combustion complète ( $\text{VC}_{\text{physio}} = \text{VC}_{\text{comb}}$ ), et l'on a pour les lipides  $\text{VC}_{\text{physio}} \approx 38,9 \text{ kJ/g}$ , et pour les glucides  $\text{VC}_{\text{physio}} \approx 17,2 \text{ kJ/g}$ , en moyenne.

Les protéines ne sont pas complètement dégradées dans l'organisme : cette dégradation s'arrête à la formation de l'urée, laquelle, sans combustion complète, ne peut fournir d'énergie ; on a donc en moyenne pour les protéines  $\text{VC}_{\text{comb}} \approx 23 \text{ kJ/g} > \text{VC}_{\text{physio}} \approx 17,2 \text{ kJ/g}$ .

Dans les voies métaboliques des nutriments, celle des glucides, par exemple, contient la glycolyse des monosaccharides en pyruvate  $\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$  (réf. [18]) qui entre ensuite dans le cycle de Krebs (réf. [4]), via l'acétyl-CoA. Chez les Mammifères, la glycolyse est la **voie d'Embden Meyerhoff-Parnas** : catabolisme oxydatif anaérobie des monosaccharides en pyruvate, ne nécessitant pas d' $\text{O}_2$  mais pouvant avoir lieu en sa présence, avec production d'ATP et de métabolites ; elle a lieu dans toutes les cellules, et met en œuvre de nombreuses réactions enzymatiques localisées dans le cytosol des cellules, avec 10 enzymes spécifiques à chaque étape : hexokinase, glucose-6-phosphate isomérase, phosphofructokinase, aldolase, triose phosphate isomérase, glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, phosphoglycérate kinase, phosphoglycérate mutase, énalase, pyruvate kinase. Des régulations de cette voie ont lieu par les substrats, certaines enzymes (actions inhibitrices), régulation hormonale (insuline, glucagon). Un déficit de pyruvate dans l'organisme provoque une pathologie grave, l'anémie hémolytique. À noter que la voie glycolyse chez les Bactéries est celle d'Entner-Doudoroff KDGP (réf. [18]).

---

7 Rappel : l'ATP est un nucléotide composé d'adénosine et 3 atomes de phosphore P (voir réf. [5], [2]).

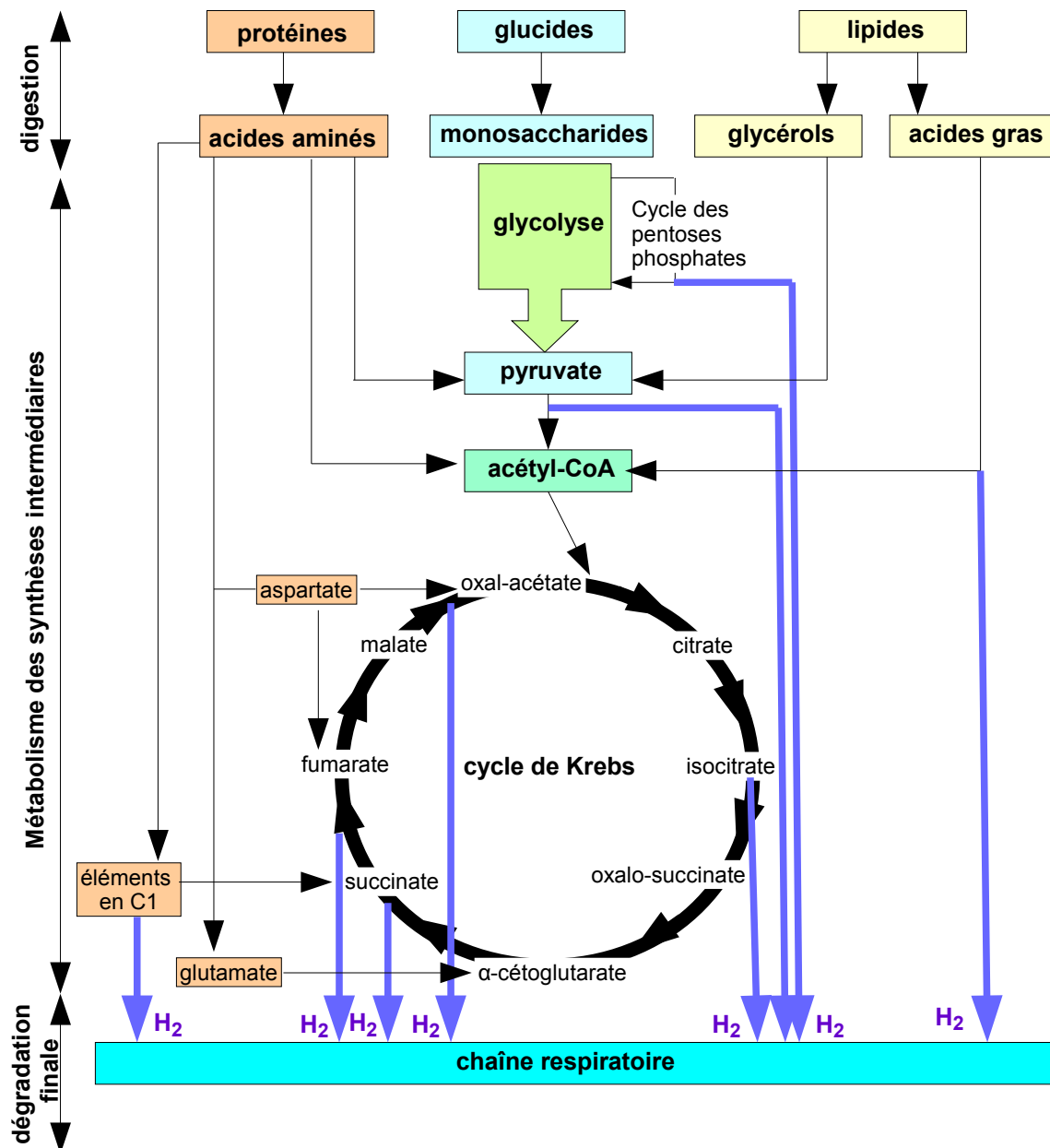


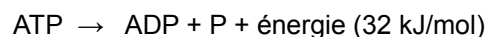
figure 10 : voies du métabolisme des nutriments

Les transformations énergétiques sont de deux sortes chez les Mammifères :

- **Métabolisme basal** : production d'énergie nécessaire au maintien de toutes les fonctions vitales au repos (activités des muscles cardiaques, respiration, transport de substances, métabolites...). Il est régulé principalement par les cortico-surrénales et la thyroïde. Chez l'Homme il représente par jour entre 5800 et 8400 kJ, selon le sexe, l'âge, la stature, le poids, la température extérieure, l'ensoleillement... Par exemple, chez les Mammifères le métabolisme basal varie avec la masse corporelle comme  $m^{0,73}$ . Les oiseaux sont capables de diminuer leur métabolisme de 20% simplement en restant immobiles face au rayonnement solaire.

- **Augmentation de la dépense énergétique** par rapport au métabolisme basal, la plus importante étant due aux mouvements corporels, et elle est aussi due à la nutrition et à la régulation thermique (lutte contre les températures trop hautes ou bien trop basses).

Les voies métaboliques font pour la plupart l'objet d'une **régulation** où interviennent des enzymes nécessitant l'hydrolyse de l'ATP (véhicule d'énergie) en adénosine diphosphate (ADP) :



Cette hydrolyse est fortement exothermique ( $\Delta G = -51,8 \text{ kJ/mol}$ ) dans les conditions cellulaires ; et pour maintenir des conditions thermodynamiques compatibles avec le métabolisme, elle est couplée à des réactions endothermiques (qui absorbent l'excès de chaleur). L'ATP requis pour les voies métaboliques est formé à partir des éléments nutritifs, selon un ratio de 70 à 85 kJ/mol avec un rendement d'environ 40%.

Ainsi le besoin journalier d'un humain de 12000 kJ/jour (2 à 3000 kcal/jour) équivaut à un flux d'ATP dans le corps humain d'environ 50 kg/jour !

Les ATP sont synthétisés à partir des enzymes ATP-ases à environ 95%.

► Dans le **métabolisme de la digestion** :

Dans le système digestif humain les enzymes contribuent à la dégradation des macromolécules (biopolymères, protéines...) en molécules plus petites, donc plus faciles à absorber (monomères issus des biopolymères, acides aminés issus des protéines...). Ces réactions de clivage sont catalysées par exemple par les amylases, les peptidases.

On distingue 2 sortes de digestion chez les êtres vivants :

• **Digestion intracellulaire** : les aliments à digérer sont absorbés directement dans le cytoplasme par phagocytose et pinocytose <sup>(8)</sup>. Les enzymes digestives interviennent dans les vacuoles digestives pour catalyser les réactions de dissociation. Les résidus non digérés sont évacués par exocytose : éclatement à l'extérieur de la vacuole. La digestion intracellulaire existe chez les Protistes, les Éponges, les Turbellariés, les Échinodermes, certains Coelentérés et Mollusques.

• **Digestion extracellulaire** (figure 11) : la nourriture est décomposée par les sucs digestifs libérés par des cellules glandulaires. Si cette décomposition est effectuée par injection directe des sucs dans ou sur la proie, au lieu de l'être dans le système intestinal, il s'agit de digestion extra-intestinale (cas des Astéries, Arachnides, Crabes...). Chez les Vertébrés, et en particulier l'Homme, la digestion est intra-intestinale. Dans ce cas la digestion se déroule en plusieurs phases :

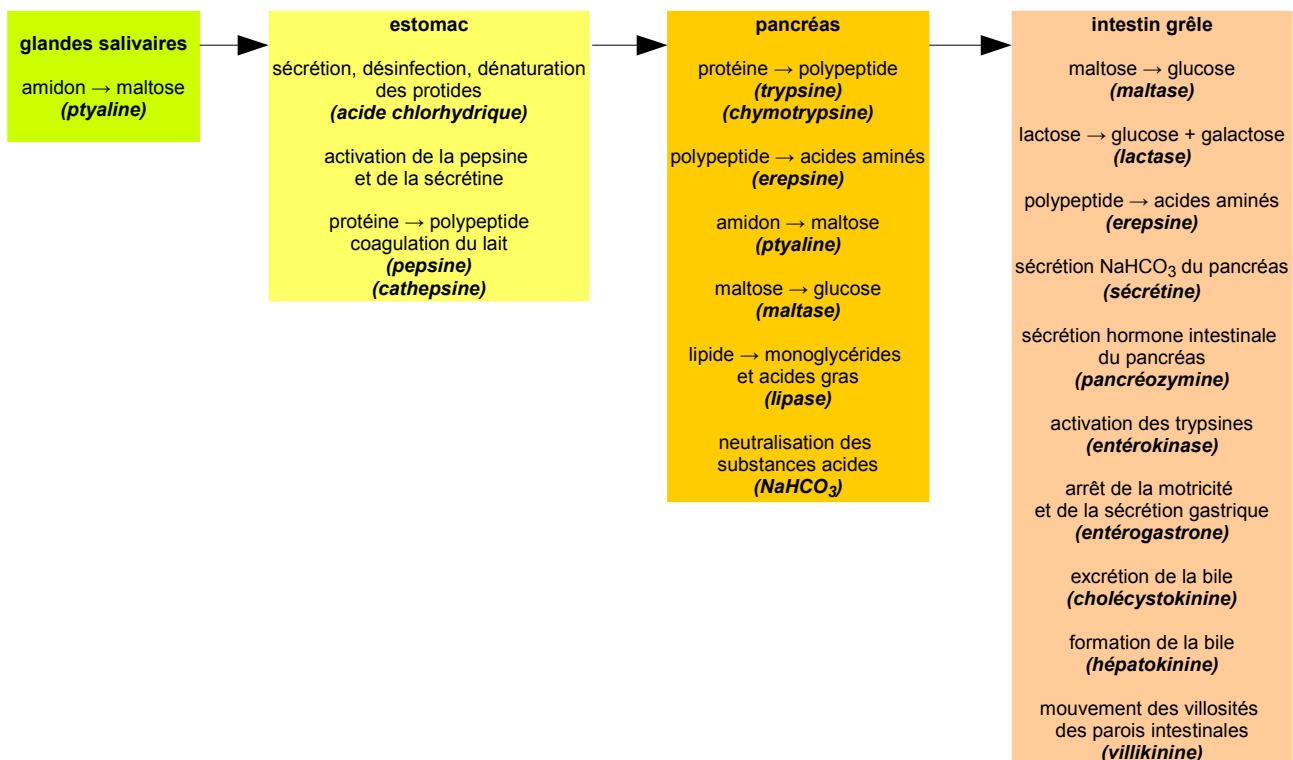


figure 11 : intervention des enzymes (en gras italique) dans la digestion extracellulaire chez les Mammifères

■ **digestion buccale** : les glandes salivaires sont stimulées par le système nerveux, au contact des aliments, et elles libèrent les premières enzymes telles que les amylases (dont la ptyaline) qui décomposent l'amidon.

■ **digestion stomacale** : le suc gastrique contient un acide fort tel que l'acide chlorhydrique, émis par les glandes de la paroi de l'estomac, qui détruit les bactéries et, avec l'action catalytique de l'enzyme pepsine, décompose les protéines en peptides, induit la fermeture du pylore, et active le précurseur de la pepsine, le pepsinogène.

■ **digestion intestinale** : le suc sécrété par l'intestin est de caractère basique et neutralise les substances provenant de l'estomac encore porteuses d'acidité. Les enzymes sécrétées par la paroi de l'intestin grêle, les peptidases et les maltases, dissocient respectivement les peptides et le maltose. Le

<sup>8</sup> La phagocytose et la pinocytose sont deux modes de transport par transfert membranaire appelé **endocytose**. Dans la phagocytose le produit est absorbé dans les vacuoles formées à la surface de la cellule, puis à l'intérieur, de tailles relativement importante (diamètre > 1000 nm), ce qui permet l'absorption des particules structurées et complexes. Dans la pinocytose les vacuoles plus petites capturent une grande quantité de molécules et de liquides.

pancréas sécrète le plus grand nombre d'enzymes : lipases (dissociation des lipides), trypsine (dissociation des protéines), peptidases, glucidases (dissociation des glucides). Le foie sécrète la bile qui neutralise et produit l'émulsion des lipides, et active les lipases du pancréas.

► Dans la **chaîne de respiration cellulaire** : c'est un ensemble de processus métaboliques dans les cellules qui permettent de synthétiser l'ATP – véhicule d'énergie – à partir du glucose. La majorité des réactions qui interviennent dans la chaîne sont des oxydoréductions. Comme vu à la figure 10, les principaux éléments nutritifs utilisés par les plantes et les animaux dans la chaîne sont les glucides, protéines (qui donneront les peptides) et les lipides (acides gras). L'oxydant employé, en respiration aérobie, est l'oxygène  $O_2$ .

Le **pyruvate**, issu de la glycolyse (fig. 10) réalisée dans le cytosol (voie de Embden et Meyerhof) est le point de départ de la chaîne respiratoire cellulaire. L'oxydation du pyruvate est réalisée par le cycle de Krebs dans les mitochondries, dans lesquelles le pyruvate, transformé en **acétyl-CoA** <sup>(9)</sup>, doit entrer préalablement. Dans le cycle de Krebs, à l'issue de la formation d'un certain nombre de composés intermédiaires, le pyruvate donne du  $CO_2$  et les coenzymes suivantes : la nicotinamide adénine dinucléotide (NADH,  $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$ ) sous sa forme réduite, la dihydroflavine adénine dinucléotide ( $FADH_2$ ,  $C_{27}H_{35}N_9O_{15}P_2$ ) qui est une oxydoréductase dérivant de la vitamine B2, et le guanosine triphosphate (GTP) coenzyme de transfert des groupements phosphate (le GTP a des propriétés semblables à celles de l'ATP).

Ces coenzymes contiennent quasi-complètement l'énergie chimique des molécules dégradées issues des nutriments. La NADH et la  $FADH_2$  sont oxydées dans la membrane mitochondriale interne en produisant des ATP. Le cycle de Krebs fait intervenir 8 enzymes et des coenzymes.

L'acétyl-CoA est condensé en présence d'oxaloacétate ( $HOO-CO-CH_2-COOH$ ) en une succession de composés (citrate, isocitrate, oxalo-succinate,  $\alpha$ -cétoglutarate, succinate, fumarate, malate) d'où est produit de nouveau l'oxaloacétate, permettant ainsi la continuité du cycle lors des fournitures de pyruvate. L'oxydation des coenzymes réduites lors du cycle de Krebs fournit à l'enzyme ATP-synthase l'énergie libérée dans la chaîne respiratoire. Avec cette énergie, l'ATP-synthase permet la **phosphorylation oxydative** <sup>(10)</sup> du nucléotide adénine diphosphate (ADP) en ATP.

► Dans l'action des **hormones** (voir aussi réf. [22]) :

L'action biochimique des hormones est liée à l'augmentation et à la diminution des activités catalytiques des enzymes. Les hormones agissent sur l'augmentation de la synthèse des enzymes, et ce, au niveau chromosomique : cas des hormones stéroïdes (œstradiol, aldostérone chez les Vertébrés).

Les hormones agissent aussi sur l'activation des enzymes déjà formées, par une réaction impliquant l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) : cas des hormones protéiques et peptidiques.

► Dans **l'hémostasie du sang** : par exemple, lors de la coagulation sanguine. La coagulation produit un caillot gélatineux à partir d'un sang à l'état liquide. Le processus fait intervenir l'activation de la prothrombine en thrombine ; celle-ci est une enzyme qui permet la protéolyse (dissociation des protéines en acides aminés par l'hydrolyse catalysée par les enzymes). La prothrombine est synthétisée dans le foie sous l'action de la vitamine K. Sa transformation en thrombine nécessite une protéolyse (voir par exemple références [20], [21]).

► Dans la **transduction des signaux cellulaires** :

Une cellule reçoit une information transmise par son environnement ou d'autres cellules, en fixant le support physico-chimique de cette information sur un récepteur. Pour utiliser ce signal elle doit d'abord le traduire puis, en réponse, générer des signaux secondaires qui déclencheront des réactions internes ou bien impliquant d'autres cellules. La fixation du support du signal est effectuée par l'association d'un **ligand** : c'est une molécule qui s'unit à la cellule cible ou un de ses composants de manière réversible. Le ligand agit sur l'activité de la cellule cible par l'activation des réactions donnant des signaux secondaires.

Les principaux processus de signalisation cellulaire font intervenir des protéines spécifiques, dites **protéines G**, qui assurent la transduction du signal extracellulaire incident (par exemple, signal hormonal) en transformant le guanosine triphosphate (GTP, évoqué plus haut) en guanosine diphosphate (GDP), et/ou par la formation de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc, évoqué précédemment) comme messenger secondaire. La signalisation cellulaire utilise aussi la voie calcique (intervention de l'ion  $Ca^{2+}$ ) qui agit sur la régulation par inhibition allostérique (voir plus haut) des enzymes et des protéines.

Les enzymes interviennent aussi dans la transduction du signal cellulaire, telles les protéines kinases (par exemple la protéine kinase A intervient dans le métabolisme des glucides et des lipides), ou les phospholipidases dont certaines interviennent dans le métabolisme des acides gras et d'autres dans la

9 Acétyl-CoA : ester sulfurique formé avec la coenzyme A, qui est une coenzyme de transfert de groupement acyle.

10 Phosphorylation : addition d'un groupe  $PO_3^{2-}$  à une molécule (protéine, glucose, adénine, glycérolipides). La phosphorylation oxydative de la chaîne respiratoire a un rendement énergétique d'environ 40% ; l'énergie libérée depuis l'étape succinate est de 162 kJ/mol et l'ATP absorbe l'énergie 29 kJ/mol.

signalisation calcique.

Il existe d'autres voies de signalisation et de transduction cellulaires...

► Dans la génération des **mouvements et les contractions musculaires** :

Chez l'être humain, et plus généralement chez les Mammifères, les muscles sont formés de cellules de structure spécifique : les **cellules musculaires**. Une cellule musculaire est une fibre de diamètre compris entre 10 et 100  $\mu\text{m}$ , et de longueur maximale 20 cm. Chaque cellule musculaire est constituée de myofibrilles de diamètre 1  $\mu\text{m}$  environ, rassemblées en compartiments appelés **sarcomères** de longueur variable selon la charge du muscle, allant de 1,5 à 3  $\mu\text{m}$ , séparés par des disques appelés disques Z.

Les fibres de sarcomères sont des filaments épais (protéine myosine) et des filaments fins (protéine actine), ces dernières étant intercalés entre les premiers, et pouvant coulisser les uns sur les autres. Les filaments de myosine sont terminés par des têtes (têtes de myosine) de diamètre 21 nm environ, et pouvant être mobiles en rotation sur 45° environ. Dans ces têtes de myosine les enzymes ATPases activent l'hydrolyse de l'ATP lors de la contraction musculaire. Durant cette contraction une partie du filament de myosine, la tropomyosine, permet d'établir des liaisons entre la myosine et l'actine. Cette action est déclenchée par la fixation des ions  $\text{Ca}^{2+}$  sur des sites spécifiques du filament (les troponines). Ces liaisons se produisent plusieurs fois, entrecoupées de séparations, pour maintenir le processus de contraction musculaire sur plusieurs cycles. En effet, un seul cycle est insuffisant puisque, à lui seul, il fournit un raccourcissement de la fibre musculaire de 1% seulement.

► Dans les **activités géniques et leur régulation** :

Chez les Eucaryotes comme chez les Bactéries le mécanisme de réplication de l'ADN s'effectue suivant le **mode semi-conservatif** : la double hélice ADN initiale à répliquer subit une désérialisation suivie d'une séparation des deux brins polynucléotides, réalisée par les enzymes ARN-polymérases. Les bases nucléiques type puriques (adénine A, guanine G) et type pyrimidiques (cytosine C, thymine T) rattachées aux brins et les reliant initialement par appariement (A-T, G-C), se trouvent libres sur un côté. Les ARN-polymérases synthétisent alors, au niveau de ces parties libres des brins, un ARN formé d'environ 10 nucléotides (**phase d'amorce**). Cette phase d'amorce est indispensable pour que soit réalisée ensuite l'assemblage des deux brins de polynucléotides par des enzymes ADN-polymérases.

Un ADN en double hélice intervenant comme **motif de la réplication** détruit ses liaisons H entre les bases nucléiques complémentaires, puis se déroule et, après rupture de l'amorce d'ARN issue de l'ADN initial, complète ses brins séparés avec des nucléosides-triphosphates (NTP) riches en énergie obtenue à partir des voies du métabolisme énergétique : l'ATP, le GTP (qui sont des nucléotides puriques), le TTP (désoxythymidine triphosphate), cytidine triphosphate (CTP) (qui sont des nucléotides pyrimidiques).

Les brins sont alors reliés par l'action des enzymes ligases, donnant de nouveaux doubles brins associés par les bases nucléiques, et formés d'une chaîne de polynucléotides de l'ADN ancien et d'une autre chaîne constituée de nouveaux polynucléotides. L'ensemble du processus fait intervenir un ensemble complexe d'enzymes, dont les ADN-polymérases (figure 12).

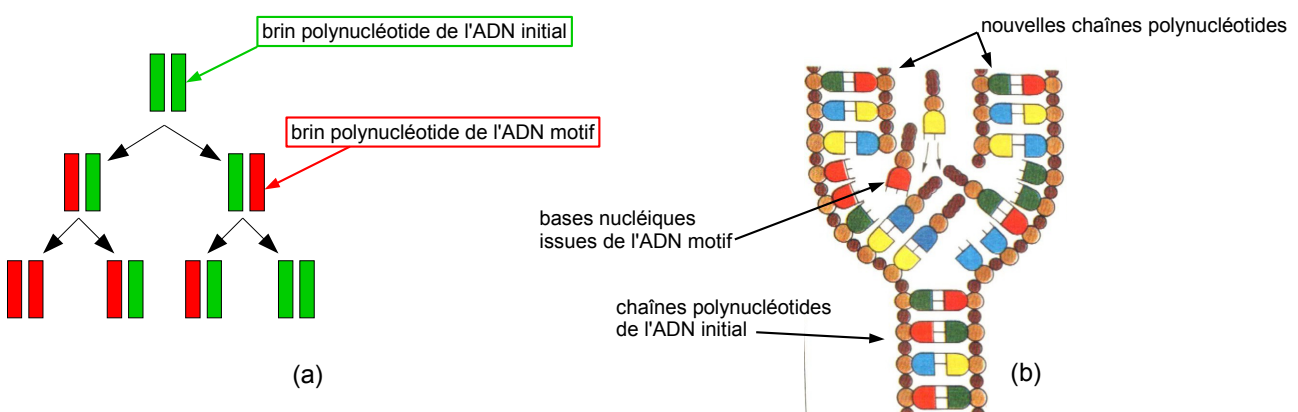


figure 12 : réplication de l'ADN

(a) mode semi-conservatif ; (b) fixation de l'amorce d'ARN sur les brins séparés libres de l'ADN initial, et son remplacement par une nouvelle chaîne polynucléotidique issue de l'ADN motif (source : réf. [23])

Les enzymes contribuent aussi à la **réparation de l'ADN** afin de conserver l'information génétique. Chez les Bactéries et les Archées (réf. [24]) l'enzyme photolyase répare certains défauts de l'ADN, affectant notamment la thymine et la pyrimidine, au moyen du rayonnement UV ou bleu ; celui-ci a pour effet d'activer le cofacteur flavine réduite (photo-réactivation). La photo-réactivation n'existe pas chez les Mammifères placentaires, donc chez l'Homme, mais elle existe chez les Mammifères à marsupium (kangourous par

exemple) ou Mammifères thériens.

Dans le processus de réparation par excision-réparation l'enzyme endonucléase coupe le brin abîmé, et une autre enzyme, exonucléase, démonte l'unité abîmée ; puis l'enzyme ADN-polymérase procède à la synthèse du nouveau brin complémentaire. Enfin une enzyme ADN-ligase effectue la liaison des deux côtés libres des brins.

► **Dans l'immunité non spécifique :**

Il existe dans les cellules, et plus spécialement dans leurs humeurs (sécrétions, liquides) des systèmes agissant contre les vecteurs d'agression des cellules. La structure et les actions d'un même système peuvent intervenir contre des vecteurs très diversifiés : elles ne sont pas spécifiques. On parle alors de systèmes d'immunité humorale non spécifique. Parmi eux, il y a :

- L'enzyme lysozyme, de la classe des hydrolases (EC3) existant, entre autres endroits, dans les sécrétions respiratoires ou digestives, les larmes, les interstices liquides. Elle catalyse la dissolution des parois des Bactéries Gram+ telles que Staphylocoques et Streptocoques, et favorise l'action des anticorps et bactéricides.

- L'interféron : glycoprotéine antivirale, synthétisée par des cellules infectées par le virus, puis glycolysée et libérée vers les cellules voisines, dans le sang et la lymphe, pour se fixer sur les membranes cellulaires. Une fois fixé, l'interféron glycolysé permet la synthèse d'enzymes qui deviendront actives lors du contact avec le virus. Parmi elles, une enzyme protéine-kinase empêche la synthèse des protéines des ribosomes que cherche à déclencher le virus, et une enzyme endonucléase détruit l'ARNm viral qui modifie le métabolisme de la cellule cible.

- Un système de composés présents dans le sérum sanguin, rendus actifs par des réactions enzymatiques (système du complément).

► Dans la régulation du **système rénal et l'équilibre hydro-électrolytique** de l'organisme :

Une des fonctions des reins est de contrôler l'élimination des sels et de l'eau, ce qui entraîne le contrôle du volume des milieux extracellulaires et de leur osmolalité (l'osmolalité est la concentration des particules actives vis-à-vis du phénomène d'osmose) (voir par ex. réf. [25]). Le rein assure normalement la concentration des ions potassium  $K^+$  à un niveau constant ainsi que le pH du sang : pour cela il régule l'élimination des ions  $H^+$  et  $HCO_3^-$  en fonction des processus respiratoires et métaboliques de l'organisme. Le rein assure aussi :

- L'excrétion des substances terminales des réactions du métabolisme.
- La conservation des composants indispensables à l'organisme tels que glucose, acides aminés.
- La dégradation de certaines protéines et peptides.
- La synthèse de certaines hormones (rénine, érythropoïétine, prostaglandine, vitamine D).

L'unité fonctionnelle du rein est le néphron. Chez l'homme, le rein met en jeu 1200000 néphrons. Le sang est filtré au départ du néphron dans le glomérule : au cours de la filtration les protéines et les cellules sont retenues tandis que l'eau et les autres substances sont rejetées dans le tubule urinaire. Une grande partie du filtrat retenu est réabsorbé dans le sang et le reste est éliminé par excrétion avec l'urine. Des solvants urinaires en provenance des cellules tubulaires pénètrent par sécrétion dans la lumière (ouverture) du néphron.

Le néphron est constitué principalement :

- du corpuscule de Malpighi, lui-même comportant la capsule de Bowman et le glomérule avec ses capillaires ;
- du tube proximal ou contourné ;
- du tube distal, relié au tube proximal par l'anse de Henlé, débouche sur les tubes collecteurs ou tubes de Bellini. C'est au niveau de ces derniers que les dernières modifications de l'urine définitive ont lieu avant excrétion ;
- le glomérule est alimenté par l'artère afférente (arrivée) et l'artère efférente (sortie).

Le volume du filtrat obtenu par tous les glomérules par unité de temps est le **taux de filtration glomérulaire** (TFG, en mL/min). La régulation du TFG est assurée par une structure du rein, l'appareil juxtaglomérulaire, à partir des signaux qu'il capte relatifs à la composition de l'urine. L'appareil juxtaglomérulaire, tout comme le cerveau, le cœur, les glandes surrénales, contient une enzyme de la classe des hydrolases (EC3) : la **rénine**, ou angiotensinogénase (EC3.4.23.15), de la famille des protéases ou enzymes protéolytiques (EC3.4). Dans le sang, cette enzyme récupère l'angiotensinogène (protéine synthétisée dans le foie). La rénine catalyse ensuite la transformation de l'angiotensinogène en angiotensine I, un décapeptide i.e. comprenant 10 groupes d'acides aminés. Une enzyme de conversion transforme ensuite l'angiotensine I en angiotensine II, un octapeptide (i.e. formé de 8 groupes d'acides aminés), qui est un vasoconstricteur puissant : il agit sur les récepteurs intervenant dans les effets vasoconstricteurs dans les artérioles, en faisant libérer par les glandes surrénales l'hormone aldostérone et des catécholamines (hormones ou neurotransmetteurs synthétisés à partir de la tyrosine), et produit la sensation de soif.

Lorsque les concentrations de NaCl sont élevées au niveau de l'appareil juxtaglomérulaire, suite à une augmentation du TFG, la rénine est excrétée et agit dans le sens d'une diminution du TFG et du débit sanguin. À l'inverse, si la pression artérielle ou le volume du plasma sanguin diminue brutalement, la rénine est aussi libérée pour conduire, cette fois, à leur remontée.

La rénine participe ainsi à une rétroaction négative, l'entrée et la sortie du système agissant l'une sur l'autre de manière antagoniste. Les organes cibles où l'angiotensine II intervient sont (figure 13) :

- Le système cardiovasculaire : vasoconstriction entraînant une remontée de la pression sanguine.
- Le système nerveux central : déclenchement du mécanisme de la soif au niveau de l'hypothalamus, stimulation dans le processus du besoin en sel.
- Le système rénal : vasoconstriction diminuant le flux sanguin dans les reins et le TFG.
- Les glandes corticosurrénales : sécrétion d'aldostérone permettant de réabsorber les ions  $\text{Na}^+$  dans l'appareil juxtaglomérulaire, ce qui permet d'économiser  $\text{Na}^+$  et  $\text{H}_2\text{O}$  suite à un TFG élevé.

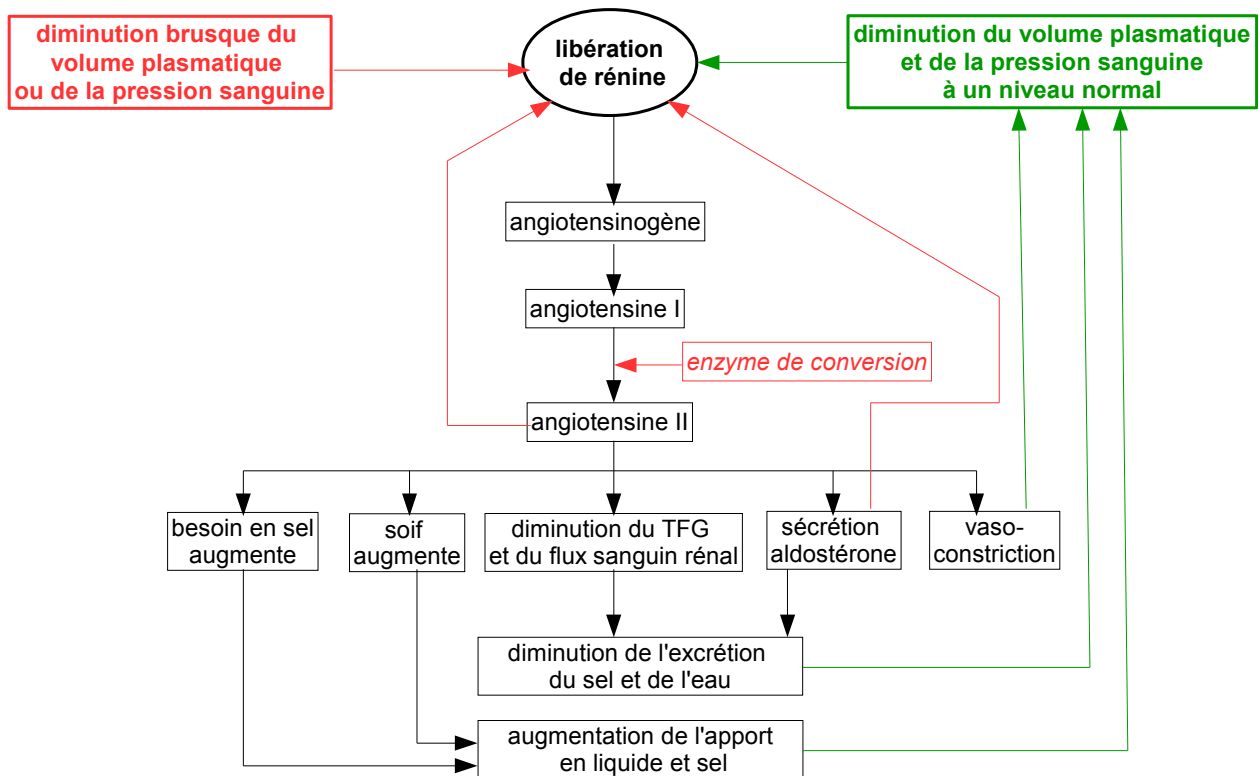


figure 13 : régulation du système rénal et de l'équilibre hydro-électrolytique (système rénine-angiotensine)

### ► Applications en ingénierie :

Les enzymes naturelles sont difficilement utilisables en l'état dans les procédés qui nécessitent la catalyse de réactions chimiques dans les transformations de produits agroalimentaires ou pharmacologiques. Une des raisons réside dans le fait que les enzymes naturelles sont opérationnelles seulement dans des conditions physiologiques des organismes très précises et au sein de chaînes métaboliques spécifiques.

L'utilisation des enzymes dans des conditions et pour des réactions qui ne correspondent pas à leurs fonctionnements naturels, nécessite de concevoir et appliquer des procédés de synthèse et/ou de modification des enzymes dans des buts divers comme : améliorer le rendement de production, adapter les conditions de stabilité et de réactivité aux process où elles interviennent, etc. dans des domaines technologiques divers tels que les biocarburants, l'agroalimentaire, la biologie moléculaire, les industries des matériaux recyclables, l'hygiène, etc.

À titre d'exemples, on peut mentionner l'emploi d'enzymes naturelles ou modifiées en techniques de transformation des produits alimentaires (réf. [26]), pour : l'hydrolyse des protéines (pour l'attendrissement des produits alimentaires, la gélification, etc.), l'hydrolyse des glycanes (pour modifier la solubilité, le pouvoir moussant, etc.), l'hydrolyse des lipides (pour les arômes, les changements de points de fusion, etc.), les oxydoréductases (pour la solubilité, les composés odorants...), les enzymes de synthèse (pour la gélification, l'encapsulation, etc.)...

## Références

- [1] R.W. Atkins : *Physical Chemistry*, Oxford University Press, 4<sup>th</sup> ed. 1990
- [2] Frédéric Élie : *Notions sur les oligoéléments et minéraux en nutrition* - site <http://fred.elie.free.fr>, décembre 2022
- [3] Manon Poret, Thanh Tran, Marie Villotte, Olivier Nüsse : *La myéloperoxydase : un fin stratège face à l'infection par un pathogène*. Médecine Sciences, m/s n°8-9, vol.33, août-septembre 2017, doi:10.1051/medsci/20173308018
- [4] Frédéric Élie : *Notions sur les lipides et les acides gras* - site <http://fred.elie.free.fr> , décembre 2022
- [5] Frédéric Élie : *Protéines et acides aminés* - site <http://fred.elie.free.fr> , décembre 2022
- [6] Jean-Louis Cuq : *Biochimie des protéines*. Université de Montpellier, Polytech STIA1, site : [http://ac-sciences-lettres-montpellier.fr/academie\\_edition/](http://ac-sciences-lettres-montpellier.fr/academie_edition/)
- [7] Aude Sadet : *Études de cinétiques enzymatiques par polarisation dynamique nucléaire avec dissolution (D-DNP) : application à l'étape oxydative de la voie des pentoses phosphates (PPP)*. Thèse de doctorat, Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2017. Français. NNT : 2017PA066217. Tel-01893014
- [8] Site spécialisé sur les protéines et leurs fonctions UniProt: <https://www.uniprot.org/> , pour la voie PPP : pages uniprot/P11413, O95336, P52209, P49247, Q96AT9, P29401, P37837, P29401
- [9] Anna Stincone et al : *The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway*. Biol Rev Camb Philos Soc. 2015 August ; 90(3): 927–963. doi:10.1111/brv.12140. Consultable sur Researchgate <https://www.researchgate.net/publication/265912314>
- [10] Frédéric Élie: *Besoins nutritionnels chez l'être humain* - site <http://fred.elie.free.fr>, décembre 2022
- [11] Ferenc Orosz, Judit Oláh, Judit Ovádi : *Triosephosphate Isomerase Deficiency : Facts and Doubts*. IUBMB Life, 58(12) : 703-715, December 2006
- [12] Frédéric Élie : *Acides et indicateurs, le chou rouge comme indicateur d'acidité*. Site <http://fred.elie.free.fr>, 27 février 2004
- [13] Cornish-Bowden et al : *Cinétique enzymatique*. Collection Grenoble Sciences, EDP Sciences, 2005
- [14] M. Fidalco et R. Lavecchia : *Kinetic Study of Enzymatic Urea Hydrolysis in the pH Range 4-9*. Chem. Biochem. Eng. Q. 17(4), 311-318(2003)
- [15] A. Cornish-Bowden, H.B.F. Dixon, K.J. Laidler, I.H. Segel, J. Ricard, S.F. Velick, E.C. Webb, et pour la version web, G.P. Moss : *Symbolism and Terminology in Enzyme Kinetics*. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry (NC-IUB), 1993, url : <https://iubmb.qmul.ac.uk/>
- [16] Paule Bénit, Sylvie Bortoli, Dominique Chrétien, Malgorzata Rak et Pierre Rustin : *Pathologies liées aux déficits du cycle de Krebs*, Revue Francophone des Laboratoires n° 501 avril 2018, © 2018 – Elsevier Masson SAS
- [17] Frédéric Élie : *Notions sur les vitamines* - site <http://fred.elie.free.fr> , décembre 2022
- [18] Frédéric Élie: *Besoins nutritionnels chez l'être humain* - site <http://fred.elie.free.fr>, décembre 2022
- [19] Frédéric Élie : *Notions sur les glucides* - site <http://fred.elie.free.fr> , décembre 2022
- [20] Frédéric Élie : *Notes sur les anticoagulants*. Site <http://fred.elie.free.fr>, octobre 2015
- [21] Frédéric Élie : *La coagulation du sang et ses défauts : taux de prothrombine, INR, phlébite, thrombose, embolie pulmonaire*. Site <http://fred.elie.free.fr>, octobre 2009
- [22] Frédéric Élie : *Les hormones* - site <http://fred.elie.free.fr>, décembre 2022

[23] Günter Vogel et Hartmunt Angermann : *Atlas de la Biologie*. Livre de Poche, Librairie Générale Française 1994

[24] Frédéric Élie : *Archéobactéries ou Archées, et les trois grands domaines du vivant* - site <http://fred.elie.free.fr>, décembre 2022

[25] Frédéric Élie : *Analyse d'urine*. Site <http://fred.elie.free.fr>, septembre 2009

[26] Guy Linden : *Transformation des produits alimentaires par les enzymes*. Techniques de l'Ingénieur, traité Génie des procédés. F3 700