

CHAPITRE B

Des protéines actives dans la catalyse : les
enzymes

L'ensemble des caractères observables ou non d'un être vivant constitue son phénotype. Ces caractères sont observables directement sur l'organisme mais également aux niveaux cellulaire et moléculaire.

Existe-il un lien entre ces diverses échelles du phénotype ?

L'étude de la drépanocytose, une maladie génétique, permet de rechercher ce lien.

1. L'étude de la drépanocytose : les trois niveaux de définition du phénotype.

La drépanocytose ou anémie falciforme est la plus fréquente des maladies de l'hémoglobine.

La molécule d'hémoglobine (Document 1), présente dans les hématies (appelés aussi globules rouges ou érythrocytes), est formée de 4 groupements prosthétiques d'un pigment rouge appelé hème et d'une protéine globulaire appelée globine.

Chaque hème porte en son centre un atome de fer.

La globine est composée de 4 chaînes polypeptidiques, 2 α (141 AA) et 2 β (146 AA). Chacune de ces chaînes est liée à l'un des hèmes et chaque atome de fer peut se combiner de façon réversible à une molécule d'oxygène (à 2 atomes). Par conséquent, une molécule d'hémoglobine peut transporter 4 molécules d'oxygène.

Cette drépanocytose montre 3 niveaux de définition du phénotype :

a) Au niveau macroscopique (au niveau de l'organisme) :

Au niveau de l'organisme, un individu peut être sain ou atteint de la drépanocytose. Les symptômes de la drépanocytose sont les suivants : une toux, de la fièvre, une certaine faiblesse, des vertiges, des maux de tête, des battements cardiaques anormaux, un essoufflement et des crises douloureuses au niveau des articulations. Tous ces symptômes sont dus à une anémie modérée mais permanente. Des accidents vasculaires ainsi que des infections limitent l'espérance de vie (environ 50 ans).

b) Au niveau cellulaire :

L'examen du sang montre que les malades sont anémiés. Une anémie correspond à une teneur de sang réduit en hémoglobine.

L'observation au microscope électronique à balayage des hématies humaines normales montre que celles-ci ont la forme de disques biconcaves (Document 2a). Chez des individus atteints de drépanocytose, elles prennent une forme de faucille (Document 2b). Les globules rouges drépanocytaires sont très raides et peuvent bloquer la circulation dans les capillaires sanguins.

c) Au niveau moléculaire (Documents 3 et 4):

L'hémoglobine (Hb) des individus malades est très peu soluble et constitue un réseau fibreux rigide dans le cytoplasme des hématies. Une prise de sang permet d'isoler les hématies et de purifier l'Hb de sujets sains (HbA) et de sujets malades (HbS). Le Document 3 donne les résultats de l'électrophorèse.

L'Hb présente dans les globules rouges permet d'identifier le niveau moléculaire du phénotype. Cette molécule protéique est différente chez les malades et chez les sujets sains. Cette différence est minime : l'Hb drépanocytaire (HbS) ne se distingue de l'Hb normale (HbA) que par le changement d'un acide aminé.

Le 6^{ème} acide aminé (AA) des chaînes β de l'hémoglobine est une valine chez les malades alors que, normalement, un acide glutamique est présent à ce niveau (Document 4).

Le remplacement de l'acide glutamique (Glu) par une valine (Val) modifie la solubilité des molécules d'HbS. En effet, la valine est, contrairement à l'acide glutamique, un acide aminé hydrophobe. Cela signifie que, dans un milieu aqueux comme le cytosol, la valine aura tendance « à fuir » les molécules d'eau en établissant une liaison avec une molécule d'hémoglobine voisine.

Chaque cellule peut être considérée comme une minuscule usine chimique dans laquelle se réalisent des réactions chimiques. Celles-ci sont catalysées par des protéines appelées enzymes. Pourquoi cette classe particulière de protéines a-t-elle un rôle si important dans la réalisation du phénotype d'un individu ?

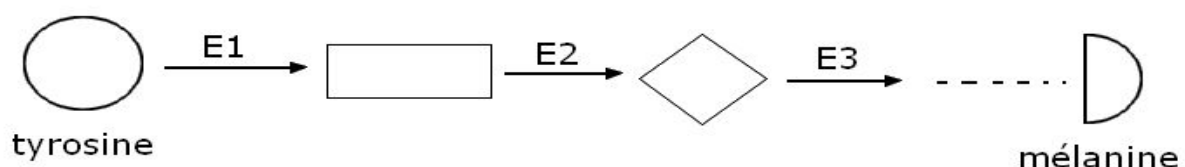
Pour répondre à cette question, prenons un exemple.

2. Exemple de l'albinisme : l'importance des enzymes.

A l'échelle macroscopique, l'albinisme est caractérisé par une absence de pigmentation de la peau et peut être présent chez l'Homme comme chez les autres animaux.

Cette anomalie est la conséquence de l'absence d'un pigment : la mélanine.

La mélanine est un pigment synthétisé par des cellules spécialisées de la peau appelées mélanocytes. La mélanine est synthétisée à partir de la tyrosine grâce à une chaîne de synthèse faisant intervenir de nombreuses enzymes.



E1, E2, E3, ... : Enzymes différentes

Si l'une de ces enzymes est absente ou non fonctionnelle, le pigment n'est pas synthétisé et il n'y a pas de pigmentation.

En conclusion, c'est la présence ou l'absence d'une protéine qui est responsable du phénotype normal ou albinos.

Les deux exemples pris précédemment montrent que le phénotype macroscopique peut s'expliquer par le phénotype moléculaire.

Le phénotype dépend de l'activité des protéines.

3. Le rôle des protéines dans la réalisation du phénotype.

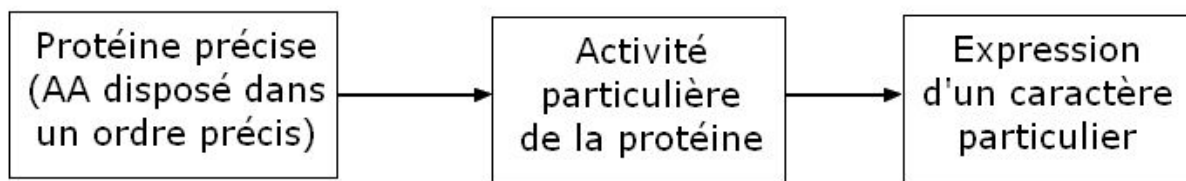
Chaque protéine est une molécule réalisant une fonction biologique précise. Comme exemple, nous pouvons citer l'hémoglobine qui transporte le dioxygène, ou encore la myosine qui intervient dans la contraction musculaire....

Une protéine est toujours constituée d'AA (voir Chapitre A). Le nombre d'AA constitutifs varie d'une protéine à l'autre. Comme 20 AA principaux existent dans le monde du vivant, nous pouvons imaginer l'extrême diversité des protéines. Ainsi l'enchaînement de 150 AA peut conduire à 20^{150} possibilités pour l'ordre dans lequel ces AA se succèdent.

La diversité des protéines conduit à la diversité des caractères phénotypiques. Il en est de même pour les phénotypes alternatifs d'un même caractère : ils sont dus à des différences dans la protéine concernée.

Par exemple, la drépanocytose est due à la possession d'une HbS au lieu d'une HbA, ou encore la mucoviscidose est due à un dysfonctionnement d'une protéine membranaire (CFTR)

Schéma : Le phénotype dépend des protéines.



Le phénotype est déterminé en grande partie par l'activité des protéines.

Nous allons montrer comment les protéines participent à l'établissement et au maintien du phénotype en étudiant une catégorie de protéines spécialisées appelées ENZYMES.

4. Des protéines essentielles : les enzymes.

a) Une expérience historique : l'expérience de Réaumur (1752)

Réaumur a réalisé l'expérience suivante : il place de la viande dans un tube métallique, fermé à ses 2 extrémités par des morceaux de grillage. Il fait ingérer, à un rapace, ce tube métallique et le récupère par régurgitation, 24h après l'y avoir placé. Il constate alors que la viande est digérée alors que le tube n'a subi aucune déformation.

La digestion de la viande n'a pas pu se produire par des phénomènes mécaniques de brassage ou de trituration car la viande est enfermée dans le tube métallique qui n'a subi aucune déformation.

Ce sont donc des phénomènes chimiques qui sont intervenus. Il existe dans les liquides digestifs du rapace une ou des substances actives pouvant assurer la digestion, par voie chimique, des aliments.

Plus tard, ces substances actives ont été nommées ENZYMES.

b) Les caractéristiques d'une enzyme.

Une enzyme est un catalyseur biologique (catalyseur biochimique = biocatalyseur) c'est-à-dire, qu'à faible dose, elles règlent et accélèrent la vitesse des réactions biochimiques. Elle agit à une température optimale et un pH optimum. Elle agit à faible dose et agit sur un substrat spécifique. Elle ne catalyse qu'un seul type de réaction chimique. Elle ne modifie pas le résultat normal de la réaction et se retrouve intact à la fin de la réaction.

c) Constitution des enzymes (Document 5).

Toutes les enzymes sont des protéines mais toutes les protéines ne sont pas des enzymes. Souvent la protéine constitue à elle seule l'agent catalytique (apoenzyme) mais, généralement, elle n'agit qu'en présence d'un ion métallique ou d'un complément dénommé cofacteur.

Etant donné que l'enzyme et le cofacteur agissent en synergie, ces cofacteurs sont dénommés coenzymes.

Le coenzyme de nature non protéique peut être :

- un ion (souvent un cation métallique) ;
- une vitamine (souvent B comme les cytochromes) ;
- un nucléotide (comme les transporteurs d'hydrogène NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide ou FAD : Flavine Adénine Dinucléotide).

Certaines enzymes sont constituées d'une chaîne protéique qui peut être courte comme pour la ribonucléase protéique (qui catalyse l'hydrolyse de l'ARN en nucléotides) comprenant 124 acides aminés.

D'autres enzymes ont une structure quaternaire et comprennent des milliers d'acides aminés. Certaines sont des holoprotéines comme la trypsine, la pepsine..., d'autres sont des hétéroprotéines comme des glycoprotéines (la lactase qui catalyse l'hydrolyse du lactose).

Remarques : - deux enzymes différentes ont toujours deux apoenzymes différents ;
- deux enzymes différentes peuvent avoir le même coenzyme.

Par exemple, le substrat et le site actif de l'enzyme se repoussent quand ils sont porteurs tous deux de charges négatives ; mais un ion métallique, porteurs de deux charges positives peut les réunir. Dans d'autres cas, l'ion métallique peut être nécessaire pour donner à l'enzyme la forme voulue pour que le substrat est accès au site actif.

d) Fonctionnement des enzymes.

⇒ La configuration spatiale de l'enzyme et l'équation bilan de la réaction enzymatique :

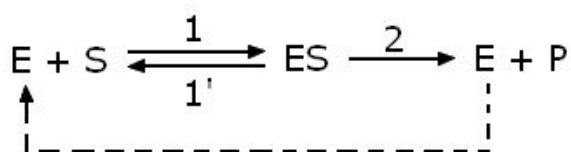
Le mécanisme d'action des enzymes tient à leur nature protéique. La molécule de substrat est de beaucoup plus petite taille qu'une grosse molécule protéique donc elle entre en contact avec une petite partie seulement de la surface de l'enzyme. La zone de la molécule d'enzyme qui réagit de façon spécifique avec la molécule de substrat est appelé site actif. Les acides aminés qui entrent en contact avec le substrat ne sont pas contigus ; ils peuvent être éloignés le long de la chaîne, tout en étant proches les uns des autres du fait du repliement de celle-ci.

Le site actif comporte deux zones spécialisées :

- le site de fixation : il est formé le plus souvent de 3 à 4 acides aminés, tous les autres ne servant qu'à maintenir cette structure spatiale. L'enzyme se fixe au substrat par des liaisons faibles. Ce site de fixation est propre à l'enzyme et l'affinité avec le substrat est grande.
- le site catalytique : il est constitué d'une petite séquence d'acides aminés mais il n'est pas caractéristique d'une enzyme donnée car deux enzymes catalysant le même type de réaction ont le même site catalytique.

C'est l'interaction entre site actif et le substrat, à l'occasion d'un contact très bref, qui augmente considérablement la vitesse de la réaction chimique.

L'équation bilan de la catalyse (appelée cinétique) enzymatique est : (Document 6)



1 : Formation du complexe enzyme - substrat (ES)

1' : Dissociation du complexe ES

2 : Formation des produits et régénération de l'enzyme libre

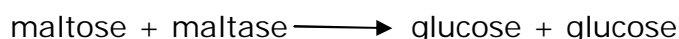
⇒ Les propriétés des enzymes :

L'une des étapes importantes de la catalyse enzymatique est la phase de reconnaissance et de fixation du substrat sur l'enzyme. Cette fixation, au niveau du site de reconnaissance, est basée sur une stricte complémentarité tridimensionnelle entre l'enzyme et le substrat.

Une enzyme possède une double spécificité :

- spécificité de substrat, elle n'agit que sur un substrat spécifique ou une classe de substrat

ex : la maltase n'agit que sur le maltose :



ex : le glucose peut être phosphorylé par une glucokinase qui n'agit que sur le glucose et est présente dans les cellules du foie.

Le nombre de molécules de substrat susceptibles de réagir en une seconde avec une seule enzyme va de 1 à plus de 20000 selon le type d'enzyme et la réaction.

- spécificité d'action, elle ne catalyse qu'un seul type de réaction chimique.

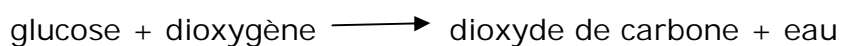
ex : une hydrolyse, une phosphorylation ...

Ainsi une enzyme présente une double spécificité et agit sur le catabolisme et l'anabolisme qui constituent tous les deux des réactions du métabolisme.

Le métabolisme est l'ensemble des réactions que se produisent au sein de l'organisme.

Le catabolisme correspond à la dégradation des molécules.

ex : catabolisme du glucose lors de la respiration cellulaire :



L'anabolisme correspond aux réactions de synthèse des molécules.

ex : protéosynthèse (synthèse des protéines), synthèse des lipides, ...

⇒ La régulation du métabolisme :

La durée de vie d'une enzyme donnée peut être de l'ordre d'une semaine ou d'un mois, mais elle est finalement détruite et remplacée par une enzyme nouvellement synthétisée.

⇒ Les facteurs influençant l'activité enzymatique :

La double spécificité de l'activité enzymatique est liée à la structure tridimensionnelle de l'enzyme. Si la structure spatiale de l'enzyme est modifiée alors l'activité enzymatique peut être perturbée.

Ces modifications peuvent être dues :

- à des modifications de la structure primaire de l'enzyme :

Si le gène codant l'enzyme est affecté alors la structure spatiale de l'enzyme est modifiée et finalement l'activité enzymatique est perturbée.

- à des modifications de l'environnement dans lequel l'enzyme est placée :

Température (Document 7)

Les enzymes présentent un optimum de température (37°C à 40°C chez l'Homme).

A basse température, elles sont inactivées. Cette action thermique est réversible car on retrouve l'activité enzymatique si l'on revient à des conditions standards. A haute température, de par leur nature protéique, elles sont dénaturées (ou dégradées si la température dépasse les 100°C). Elles perdent leurs propriétés de façon irréversible. Néanmoins quelques enzymes, dites thermorésistantes, ne sont pas dégradées à 100°C.

pH (Documents 8 et 9)

Les enzymes présentent un pH optimum. Pour la majorité, l'optimum est aux environs de la neutralité (pH 7).

Certaines enzymes ont leur optimum très acide (pepsine, enzyme de la digestion gastrique, pH 2), moins acide (amylase, enzymes salivaire et pancréatique, pH 6) ou basique (trypsine, protéase sécrétée dans l'intestin grêle par le pancréas, pH 8).

Le pH influe sur la charge des acides aminés. La structure quaternaire peut être modifiée ainsi que l'activité enzymatique qui en résulte. Les variations de pH entraînent une inactivation très importante mais toujours réversible.

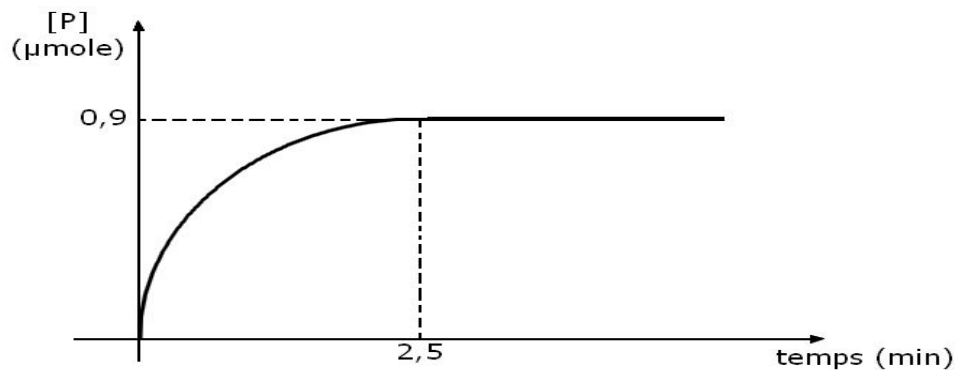
D'autres paramètres peuvent encore influencer de manière significative l'activité enzymatique : concentration ioniques, présence d'agents dénaturants (urée, β - mercapto-éthanol, ...)

⇒ Cinétique de la réaction enzymatique :

Pour apprécier la théorie cinétique, il faut admettre que :

- le complexe ES (enzyme – substrat) est réversible (dissociable) ;
- la vitesse (quantité de produit formé par unité de temps) est proportionnelle à la concentration du complexe ES.

Une courbe illustre ces faits :



Dans la première partie de la courbe, la quantité de substrat est inférieure à la capacité catalytique de l'enzyme.

La concentration en substrat est donc le facteur limitant de la réaction (facteur limitant = paramètre du milieu extérieur dont la valeur est très éloignée de la valeur conduisant à un développement et à une croissance optimaux).

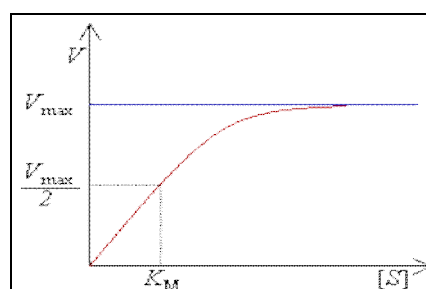
Puis on observe un plateau déterminant la vitesse maximale (V_{max}). Cette V_{max} correspond au cas où toutes les enzymes se trouvent sous forme ES c'est-à-dire au cas où la concentration en substrat est suffisamment élevée pour que tous les sites enzymatiques soient liés au substrat.

Le facteur limitant est alors la quantité d'enzyme présente dans le milieu.

On dit que l'enzyme est alors saturée.

On peut mesurer la facilité d'une enzyme à se lier à son substrat ou affinité d'une enzyme pour son substrat par une constante : la constante de Michaelis ou K_M .

La valeur de cette constante est égale à la concentration du substrat qui donne la moitié de la vitesse maximale (V_{max})



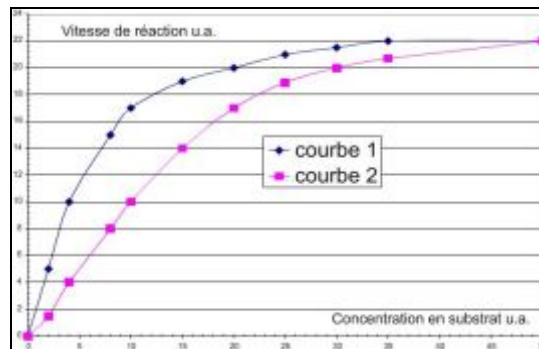
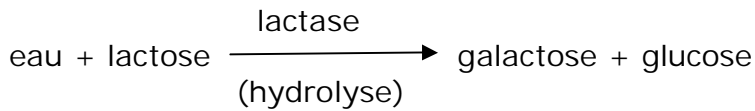
Cette constante est inversement proportionnelle à l'affinité entre enzyme et substrat. Plus ce paramètre a une valeur élevée et moins l'enzyme a d'affinité pour son substrat.

Remarques :

- C'est au début que la vitesse est maximale (V_i).

Puis à la fin, la vitesse s'annule.

- Notion d'inhibiteur compétitif :



Courbe 1 : lactose seul
Courbe 2 : lactose + thiolactose (proche du lactose)

On constate que la vitesse augmente moins vite en présence de thiolactose. Ce dernier est un inhibiteur. Ce thiolactose peut être reconnu par l'enzyme également. Il y a une compétition pour le site actif.

Le thiolactose est un INHIBITEUR COMPÉTITIF.

Quelle est la relation entre enzymes et phénotype ?

5. Enzymes et phénotype.

L'activité globale d'une cellule et donc l'activité d'un organisme pluricellulaire est influencée par la nature des enzymes que cette cellule donc cet organisme possède.

Le phénotype dépend en grande partie des enzymes.

Conclusion.

Ce chapitre nous a permis de montrer les relations entre enzymes, phénotype, environnement et IG. Ces relations peuvent être résumées de la manière suivante :

