

# ENZYMLOGIE

**Cours format PDF**

**Historique ; Site actif ; Complexe enzyme - substrat ; Etat de transition**



## I. Historique

II. Spécificité de l'association protéine - ligand ; le site actif ; les classes d'enzymes (E.C. X.X.X.X)

III. Le complexe enzyme - substrat

IV. Etat de transition, énergie libre d'activation et énergie libre de la réaction enzymatique (*animation*)

Annexe : distinction entre concentrations à l'équilibre et à l'état stationnaire

## I. Historique.

Les organismes vivants sont le siège d'un grand nombre de réactions biochimiques très diverses. Ces réactions s'effectuent dans des conditions où, normalement, elles ne pourraient se faire. Si elles ont lieu, c'est parce qu'elles sont catalysées par des macromolécules biologiques : les enzymes. De plus les enzymes sont caractérisées par une très haute spécificité de reconnaissance des molécules sur lesquelles elles agissent.

L'enzymologie est donc la partie de la biochimie qui étudie les propriétés structurales et fonctionnelles des enzymes (la relation structure - fonction). En particulier, elle s'applique à décrire la vitesse des réactions catalysées par les enzymes.

Il est difficile de situer exactement la découverte de la notion d'enzyme et surtout d'enzyme en tant que seul catalyseur des réactions chimiques qui se déroulent dans les organismes vivants.

1783 : Lazzaro Spallanzani a rapporté que la viande est liquéfiée par un extrait gastrique. Il note également que la température a un grand effet.

1814 : Kirchoff a observé qu'un composant "glutineux" (comme il l'a appelé à l'époque) de blé convertit l'amidon en sucre.

1833 : La première découverte d'une enzyme est d'habitude attribuée à Anselme Payen et Jean-François Persoz qui ont traité un extrait aqueux de malt à l'éthanol puis précipité une substance labile à la chaleur qui hydrolysait l'amidon. Ils ont appelé cette fraction "diastase" qui signifie "séparation" en Grec, puisque cette fraction séparait le sucre soluble de l'amidon insoluble. On sait maintenant que cette préparation était une solution non purifiée d'amylase.

1834 : Theodor Schwann a obtenu le premier agent actif d'origine animale (la pepsine) qu'il a partiellement purifiée en traitant la paroi stomacale par l'acide.

Il est important de souligner qu'à l'époque les premières observations d'activité enzymatique ont précédé une notion claire et précise de la catalyse. Le concept de catalyse provient de l'observation de l'action de la diastase et de la pepsine parallèlement à celle de la levure pendant la fermentation : dans tous les cas, une "substance était changée en une autre" sous l'influence d'un agent actif : le catalyseur. A l'époque, la levure n'était pas encore considérée comme une cellule vivante.

1838 : Charles Cagniard de Latour montra que le processus de fermentation est dû à des organismes vivants.

1858 à 1871 : Les travaux de Louis Pasteur confirmèrent cette idée. Pasteur émit l'hypothèse révolutionnaire que les changements chimiques lors de la fermentation résultaient des processus de la vie des micro-organismes impliqués dans la fermentation.

A l'opposé, Liebig et Stahl privilégiaient une théorie purement chimique : un "ferment" était une substance chimique produite par un organisme en décomposition et les atomes de ce ferment étaient supposés en mouvement incessant.

Cet état d'agitation élevé était transmis aux atomes de la molécule de sucre (substrat du ferment) dont les éléments devaient être maintenus par des forces faibles. Il en résultait une scission du sucre en  $\text{CO}_2$  et éthanol dont les liaisons étaient plus fortes.

1860 : Berthelot fit macérer de la levure et obtint une fraction précipitable à l'alcool capable de convertir le sucrose en glucose plus fructose. Il conclut que l'"invertase" (nom qu'il donna à l'agent actif de cet extrait) était l'un des multiples ferments présents dans la levure.

1878 : Kühne proposa le nom d'enzyme (signifiant : "dans la levure") pour qualifier ces ferments. Le suffixe "ase" fût proposé par Duclaux en 1898.

1897 : Hans et Edouard Buchner s'intéressaient aux extraits de levure dans un but thérapeutique. Ces extraits étant destinés à l'homme ne pouvaient contenir des bactéricides. L'un de leur collaborateur suggéra de les remplacer par de grandes quantités de sucrose dont on savait qu'elle inhibait la croissance bactérienne.

Ainsi, la controverse Pasteur - Liebig prit fin quand les frères Buchner purent obtenir un extrait cellulaire total de levure qui pouvait faire la fermentation complète du sucre.

1897 : La même année, Bertrand observa que certaines enzymes requièrent des facteurs dialysables pour leur activité : il les nomma "coenzymes".

Au début du 20<sup>e</sup> siècle, de gros travaux furent entrepris pour purifier des enzymes et surtout décrire leur activité catalytique en termes mathématiques.

1902 : V. Henri et Adrian Brown suggèrent indépendamment que la formation d'un complexe enzyme - substrat est un intermédiaire obligatoire de la réaction enzymatique. Cette suggestion s'appuyait sur la forme de la courbe obtenue quand on reporte la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration en substrat (A. Brown avait étudié la vitesse d'hydrolyse du sucrose par la  $\beta$ -fructofuranosidase, l'invertase, de la levure). De plus cette suggestion était en accord avec le concept de reconnaissance enzyme - substrat du type "clé - serrure" proposé par Emil Fisher en 1894.

Henri fût donc le premier à décrire l'équation mathématique reliant l'effet de la concentration du substrat à la vitesse de catalyse.

1913 : Leonor Michaelis et Maud Menten redécouvrirent l'équation de V. Henri et établirent la relation que l'on connaît actuellement sous le nom d'équation de Michaelis - Menten et qui en toute rigueur s'appelle l'équation de Henri - Michaelis - Menten. Le point important est que l'obtention de cette équation repose sur l'hypothèse qu'il s'établit un équilibre rapide entre les concentrations de l'enzyme, du substrat et du complexe enzyme - substrat ( $E + S \rightleftharpoons ES$ ).

1925 : George Briggs et James Haldane généralisèrent l'équation précédente en introduisant le concept d'état stationnaire pour la concentration du complexe enzyme - substrat.

Le fait que les enzymes sont des protéines ne fût accepté qu'à partir de la fin des années 20.

1926 : Sumner cristallisa l'uréease mais beaucoup affirmèrent qu'elle n'était qu'une impureté adsorbée dans le cristal protéique.

Années 30 : Northrop et ses collaborateurs cristallisèrent la pepsine, la trypsine et la chymotrypsine et démontrèrent la pureté des cristaux obtenus.

Années 40 et 50 : Des centaines d'enzymes furent purifiées et cristallisées permettant ainsi l'**élucidation de dizaines de voies métaboliques**.

De nouvelles techniques chimiques et physiques furent employées pour analyser la structure des protéines.

1955 : **Frédéric Sanger** publia la séquence complète en acides aminés d'une petite protéine : l'insuline (masse molaire 6000 Da).

1957 : La première structure cristallographique d'une protéine (la myoglobine), déduite de la diffraction des rayons X, fût obtenue par **Kendrew**.

Années 60 : La première séquence d'une enzyme (la ribonucléase, masse molaire 13700 Da) fût publiée en 1960 et la première synthèse chimique (également de la ribonucléase) fût obtenue en 1969.

Les biochimistes focalisèrent alors sur le mécanisme de l'activité enzymatique et son mode de régulation.

1963 : Cleland proposa une procédure claire et uniforme pour écrire les équations des cinétiques des systèmes enzymatiques à plusieurs substrats.

1965 : **Jacques Monod**, Jeffries Wyman et Jean-Pierre Changeux proposèrent un modèle cinétique (modèle MWC) pour les enzymes allostériques (enzymes dont la courbe de vitesse en fonction de la concentration en substrat est de forme sigmoïdale et non hyperbolique).

1966 : Daniel Koshland, Nemethy et Filmer généralisèrent le modèle précédent en incluant la notion d'ajustement induit proposé par Koshland en 1959 (modèle KNF).

HAUT PAGE

## II. Spécificité de l'association protéine - ligand ; le site actif

Quels sont les facteurs qui expliquent l'extrême spécificité de la reconnaissance entre une protéine et un ligand?

a. Toutes les protéines se replient dans une conformation dite native et c'est dans cette conformation qu'elles acquièrent leur activité biologique (leur pouvoir de catalyseur dans le cas des enzymes). Ce repliement aboutit à une structure tridimensionnelle unique de la protéine.

b. Cette structure globale de la macromolécule permet à une région particulière, le **site actif** (souvent enfoui au sein de la protéine), d'adopter elle aussi une structure spatiale qui est reconnue par le ligand spécifique de la protéine (et, le cas échéant, par un petit nombre de molécules dont la structure est proche de celle du ligand).

c. Le site actif est constitué d'**un petit nombre d'acides aminés** qui le plus souvent ne sont pas contigus dans l'enchaînement de la chaîne polypeptidique. Ces acides aminés sont caractérisés par une chaîne latérale dont à la fois la nature chimique (groupement ionisable ou polarisable) et la structure (encombrement stérique) sont particulières.

d. La stéréochimie qui résulte de cet agencement unique des acides aminés qui constituent le site actif est la cause de la stéréospécificité de reconnaissance entre ces acides aminés et le (ou les) ligand(s).

e. Les enzymes ne fixent pas seulement un ligand (un substrat) ; elles le transforment en un produit lors d'une réaction chimique. Certains acides aminés du site actif ont pour fonction, non pas de fixer le substrat, mais de fournir les groupements chimiques nécessaires à la réaction catalysée par l'enzyme. Dans le cas des enzymes, on distingue donc au sein du site actif, les acides aminés qui constituent le site de fixation (ces acides aminés n'ont pas de fonction chimique impliquées dans la réaction) et les acides aminés qui constituent le site catalytique.

On peut citer divers types d'association entre une protéine et un ligand : les complexes enzyme - substrat ; enzyme - régulateur (inhibiteur, activateur ...) ; antigène - anticorps ; histones - ADN ; protéines - hormones.

L'énergie libre de formation des complexes est très variable comme le montre le tableau suivant :

Protéine	Ligand	$K_{\text{association}}$ (M)	$\Delta G$ (kcal.mol <sup>-1</sup> )
Carboxypeptidase	$\beta$ -phénylpropionate	$5 \cdot 10^{-3}$	3,2
Trypsine	butylamine	$10^{-3}$	4,2
Phosphofruktokinase (2 conformations)	adénosine - diphosphate (ADP)	$10^{-3}$ $2 \cdot 10^{-5}$	4,2 6,5
Homosérine déshydrogénase	NADPH	$3 \cdot 10^{-7}$	9
Méthionine - tARN synthétase	méthionyl - adénylate	$2 \cdot 10^{-9}$	12
Histone	ADN	$10^{-11}$	15
Aphémoglobine	hème	$10^{-13}$	18

"Biochimie" Chapeville, Clauser et al. (1974) Ed. Hermann

Si elle est réversible, l'association protéine - ligand correspond à la réaction suivante :

$k_1$	* $k_1$ et $k_{-1}$ sont des constantes de vitesse (constantes microscopiques).
$E + L \rightleftharpoons EL$	* $k_1$ : constante de vitesse du second ordre (réaction bimoléculaire) - unités : $\text{mol.L}^{-1}\text{s}^{-1}$ ou $\text{M.s}^{-1}$
$k_{-1}$	* $k_{-1}$ : constante de vitesse du premier ordre (réaction monomoléculaire) - unités : $\text{s}^{-1}$
On définit la constante de dissociation (constante macroscopique) qui lie la concentration des composés impliqués dans la réaction :	$K_{\text{dissociation}} = \frac{[E][L]}{[EL]}$ $K_{\text{association}} = \frac{[EL]}{[E][L]}$

Les différentes classes d'enzymes :

La classification établie par la commission des enzymes de l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (sigle anglais "IUBMB") a été établie sur des critères de spécificité.

La nomenclature des enzymes s'écrit de manière générale sous la forme : E.C. X.X.X.X. (E.C. : "Enzyme Commission").

	1er X	Réaction catalysée	exemple de coenzyme impliqué
Le premier "X" correspond aux 6 types de réactions catalysées par les enzymes	X = 1 : oxydoréductases (E. C. 1.X.X.X)	oxydoréduction	NAD(P)+
	X = 2 : transférases (E. C. 2.X.X.X)	transfert de groupes	phosphate de pyridoxal
	X = 3 : hydrolases (E. C. 3.X.X.X)	hydrolyse	aucun
	X = 4 : lyases (E. C. 4.X.X.X)	addition de groupe à des atomes engagés dans des doubles liaisons	pyrophosphate de thiamine
	X = 5 : isomérases (E. C. 5.X.X.X)	isomérisation (de position de groupe ou de fonction)	phosphate de pyridoxal
	X = 6 : ligases (E. C. 6.X.X.X)	condensation de deux molécules	ATP
<i>Remarque : dans les banques de données, on trouve une catégorie "Autres" ; exemples : kinases, phosphotransférases, "Mutator transposons"</i>			
Considérons le groupe 1 des oxydoréductases : le 2ème "X" permet un classement supplémentaire en fonction de la nature du groupe du donneur d'électrons sur lequel l'enzyme agit	2ème X		l'enzyme agit sur :
	X = 1 : E. C. 1.1.X.X		le groupe CH-OH du donneur d'électrons
	X = 2 : E. C. 1.2.X.X		la fonction aldéhyde ou oxo du donneur d'électrons
	X = 3 : E. C. 1.3.X.X		le groupe CH-CH du donneur d'électrons
	<i>etc ...</i>		
	X = 19 : E. C. 1.19.X.X		la flavodoxine réduite
X = 97 : E. C. 1.97.X.X		autres oxydoréductases	
Considérons le groupe 1.4 des oxydoréductases qui agissent sur le groupe CH-NH2 du donneur d'électrons : le 3ème "X" permet un classement supplémentaire en fonction de la nature du groupe accepteur d'électrons sur lequel l'enzyme agit	3ème X		l'accepteur d'électrons est:
	X = 1 : E. C. 1.4.1.X		NAD+ ou NADP+
	X = 2 : E. C. 1.4.2.X		un cytochrome
	X = 3 : E. C. 1.4.3.X		l'oxygène
	X = 4 : E. C. 1.4.4.X		un groupe disulfure
	X = 7 : E. C. 1.4.7.X		une protéine fer - soufre
X = 99 : E. C. 1.4.99.X		autres accepteurs	
<i>Remarque : il n'y a pas de classe E. C. 1.4.5.X et E. C. 1.4.6.X</i>			
Considérons le groupe 1.4.1 des oxydoréductases qui utilisent le NAD+ ou le NADP+ comme accepteur d'électrons : le 4ème "X" permet un classement supplémentaire en fonction du substrat sur lequel l'enzyme agit	4ème X		Nom de l'enzyme
	X = 1 : E. C. 1.4.1.1		alanine déshydrogénase
	X = 2 : E. C. 1.4.1.2		glutamate déshydrogénase
	X = 3 : E. C. 1.4.1.3		glutamate déshydrogénase (NAD(P)+)
	X = 4 : E. C. 1.4.1.4		glutamate déshydrogénase (NAD(P)+)
	<i>etc ...</i>		
X = 19 : E. C. 1.4.1.19		tryptophan déshydrogénase	
X = 20 : E. C. 1.4.1.20		phenylalanine déshydrogénase	
<i>L'exemple de la glutamate déshydrogénase (E. C. 1.4.1.2, E. C. 1.4.1.3 et E. C. 1.4.1.4) met en évidence la notion d'isoenzymes ou d'isoformes de la "même" enzyme</i>			

### III. Le complexe enzyme - substrat

HAUT PAGE

La formation initiale d'un complexe enzyme - substrat E-S (NON covalent) fût suggérée d'après les observations suivantes :

- a. Le haut degré de spécificité de la reconnaissance d'un substrat par une enzyme. Pour l'expliquer, Emil Fisher suggéra en 1894 que cette reconnaissance résulte d'une très forte complémentarité des structures (mais aussi de la nature chimique des groupements réactionnels) du substrat et de l'enzyme qui le fixe, comme le sont une clé et la serrure dans laquelle elle entre ;
- b. La forme de la courbe dite de saturation : vitesse initiale de la réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat ( $v_i = f([S])$ )

(V. Henri, 1902 ; Adrian Brown, 1902) ;

- c. Le fait que les substrats protègent souvent les enzymes de l'inactivation (O'Sullivan & Tompson, 1890).

L'hypothèse "clé-serrure", bien qu'extrêmement satisfaisante, **ne peut rendre compte de certaines observations** :

- a. par exemple, certains composés qui ressemblent chimiquement à un substrat mais qui ont des groupements moins volumineux ne sont pas catalysés, bien qu'ils doivent encore mieux s'insérer dans le site actif ;
- b. Il existe un mécanisme enzymatique à deux substrats appelé "fixation ordonnée" pour lequel un substrat B ne peut se fixer que si le substrat A l'est déjà. Or, selon l'hypothèse "clé - serrure", le substrat B devrait se fixer d'emblée.

**Diverses théories** ont été proposées pour expliquer les modifications structurales du substrat et/ou de l'enzyme lors de leur association.

- a. Henry Eyring et Rufus Lumry (1954) ont proposé le modèle appelé "rack" (*trad. : cheval de torture ; tourmenter*) : c'est le substrat qui subit un changement conformationnel, la structure de l'enzyme étant considérée comme "rigide". Le résultat est un accroissement de la labilité des liaisons à rompre dans la molécule de substrat puisque celui-ci, bien que fixé de manière lâche, subit des tensions dans ses liaisons qui l'amènent dans une configuration proche de celle de l'état de transition.
- b. Daniel Koshland (1958) a proposé le modèle de l'ajustement induit : le substrat induit un changement conformationnel du site actif de l'enzyme. Les orbitales des groupements catalytiques et du groupement réactionnel du substrat sont alignées de manière optimale pour l'acte catalytique (*voir article*). A l'inverse, des molécules qui ont une structure analogue à celle du substrat peuvent se fixer mais l'orientation spatiale des groupements ne permet pas l'acte catalytique. Pour un mécanisme ordonné à deux substrats, la fixation du premier est supposée induire un changement de conformation qui révèle le site de fixation du second substrat. Par exemple, l'hexokinase de levure se replie en deux domaines structuraux reliés par une région flexible appelée "charnière". Cette enzyme catalyse la phosphorylation (par l'ATP) du glucose en glucose-6-phosphate. Quand elle fixe le glucose, l'hexokinase subit un profond changement de conformation : les deux domaines se rapprochent l'un de l'autre par un mouvement d'environ 12°, ce qui augmente l'hydrophobicité du site actif et prévient l'hydrolyse de l'ATP.
- c. Williams Jenks (1966) a proposé le modèle appelé "strain" (*trad. : tension ; déformation*) : c'est une "combinaison" des deux théories qui précèdent. Les changements de conformation de l'enzyme entraînent des contraintes dans la structure du substrat.

HAUT PAGE

#### IV. Etat de transition, énergie libre d'activation et énergie libre de la réaction enzymatique (*voir animation*).

Un substrat et un produit d'une réaction enzymatique sont caractérisés par des liaisons chimiques. Au cours d'une réaction, des échanges d'énergie avec le milieu environnant ont lieu : certaines liaisons du substrat sont rompues en absorbant de l'énergie et les liaisons du produit sont formées en libérant de l'énergie.

Dans le cas d'une réaction exergonique, l'énergie nécessaire pour rompre les liaisons du substrat est inférieure à l'énergie libérée lors de la formation des liaisons du produit. L'énergie requise pour que la réaction ait lieu (l'énergie nécessaire pour que les liaisons du substrat soient rompues) s'appelle l'énergie libre d'activation :  $\Delta G^\ddagger$ . Lors de l'absorption de cette énergie, la vitesse des molécules de substrats augmente et donc la fréquence et le nombre de collisions entre molécules de substrats et d'enzyme augmentent aussi. Parallèlement, l'augmentation de l'agitation thermique fragilise les liaisons qui sont donc plus faciles à rompre.

Eyring a proposé la théorie de l'état de transition en 1935 : quand toute l'énergie d'activation est absorbée, la molécule de substrat est dans l'état de transition (les angles et les longueurs des liaisons chimiques du substrat sont distordus) ; c'est l'état le plus énergétique, donc le plus instable. La réaction évolue spontanément vers un état énergétique plus faible, la formation du produit de la réaction.

Pour sa part, la différence d'énergie libre de Gibbs entre les produits et les substrats est la variation d'énergie libre de Gibbs de la réaction :  $\Delta G^{\text{réaction}}$ .

Il faut noter que même dans le cas d'une réaction exergonique, les substrats doivent franchir la barrière d'activation. Cette barrière est essentielle pour la vie : sans elle, les macromolécules (protéines, acides nucléiques ...) à fort potentiel énergétique se décomposeraient spontanément.

Dans les conditions de la vie cellulaire, peu de molécule peuvent franchir la barrière d'activation dans un laps de temps compatible avec les processus biologiques. Par exemple, le demi-temps de désamination de l'adénosine à 20°C et à pH7 est d'environ 20000 ans !

Seule l'intervention d'un catalyseur biologique, une enzyme, le permet. Une enzyme augmente la vitesse de la réaction en abaissant l'énergie d'activation : à la même température, les substrats franchissent plus facilement et donc plus fréquemment la barrière d'activation, comme le montrent le tableau suivant :

	Vitesse non enzymatique (s <sup>-1</sup> )	Vitesse enzymatique (s <sup>-1</sup> )	Facteur d'accroissement
Chymotrypsine	4 10 <sup>-9</sup>	4 10 <sup>-2</sup>	10 <sup>7</sup>
Lysozyme	3 10 <sup>-9</sup>	5 10 <sup>-1</sup>	2 10 <sup>8</sup>
Triose phosphate isomérase	6 10 <sup>-7</sup>	2 10 <sup>3</sup>	3 10 <sup>9</sup>
Fumarase	2 10 <sup>-8</sup>	2 10 <sup>3</sup>	10 <sup>11</sup>
Uréase	3 10 <sup>-10</sup>	3 10 <sup>4</sup>	10 <sup>14</sup>
Désaminase d'adénosine	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>14</sup>
Phosphatase alcaline	10 <sup>-15</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>17</sup>

"Principes de Biochimie" Horton, Moran, Ochs, Rawn, Scrimgeour (1994), Ed. DeBoeck Universités

- En conclusion, les enzymes **ne modifient pas la variation d'énergie libre de Gibbs** de la réaction : la constante d'équilibre de dissociation ( $K_{\text{dissociation}}$ ) d'une réaction n'est pas modifiée.
- En revanche, les **constantes de vitesse** microscopiques ( $k_1$  et  $k_{-1}$ ) **sont modifiées** dans le même rapport.

*Quels sont les facteurs qui expliquent le passage de la structure du substrat dans l'état de transition et l'accélération de la réaction par franchissement de la barrière d'activation ?*

Rappelons tout d'abord que l'état de transition est un arrangement de liaisons chimiques en train de se former et de se rompre puisque c'est une structure intermédiaire entre celle du substrat dont il est issu et celle du produit qu'il va former. L'état de transition est donc une structure hautement énergétique donc instable.

La vitesse d'une réaction enzymatique dépend de l'efficacité de la rencontre entre les molécules qui vont former l'état de transition. Cette efficacité dépend à la fois de l'orientation des molécules l'une par rapport à l'autre et de leur énergie : cette énergie minimale requise est l'énergie d'activation.

Rappelons ensuite les deux grands types chimiques de mécanismes catalytiques :

- a. **La catalyse acide-base** : c'est le mécanisme le plus courant de la catalyse enzymatique ; l'accélération de la réaction résulte du transfert d'un proton. Bien souvent ce proton provient du couple imidazole / imidazolium de la chaîne latérale de l'histidine puisqu'elle a un pKa situé entre 6 et 7 et constitue au pH physiologique un groupe donneur / accepteur de proton.
- b. **La catalyse par covalence** : elle concerne essentiellement les réactions enzymatiques où plusieurs substrats sont impliqués (environ 20% des enzymes et toutes les enzymes à mécanisme "ping-pong") ; une partie du premier substrat est transférée à l'enzyme *via* la formation d'une liaison covalente puis cette partie du substrat est transférée au second substrat.

Les **protéases à sérine** sont des enzymes qui utilisent les deux types de catalyse : la sérine 195 sert de catalyseur par covalence avec un carbone de la liaison peptidique qui va être clivée et l'histidine 57 sert de catalyseur acide-base.

On estime que les acides aminés mis en jeu dans la catalyse acide - base accélèrent de 10 à 100 fois les réactions enzymatiques par rapport à la vitesse de la même réaction non catalysée par une enzyme. L'accélération par la catalyse covalente est du même ordre de grandeur.

Bien qu'importants, ces deux facteurs sont loin de rendre compte des facteurs d'accélération couramment observés avec les enzymes ( $10^7$  à  $10^{17}$ , voir tableau ci-dessus).

a. **l'effet de voisinage** : La fixation d'une molécule de substrat au site actif d'une enzyme augmente la concentration effective du substrat par rapport à sa concentration à l'état libre en solution. Cet accroissement de concentration augmente la fréquence de formation de l'état de transition.

Il est important de noter que ce phénomène exige une **fixation lâche du substrat** (*attention : pas une fixation lâche de l'état de transition !*) à l'enzyme car une fixation trop forte irait à l'encontre de la catalyse. L'enzyme doit donc maintenir le substrat en place tant que l'état de transition n'est pas atteint mais sans l'immobiliser. Si tel était le cas, le complexe ES formé serait trop stable pour atteindre sa configuration de l'état de transition ( $ES^\ddagger$ ).

b. **la stabilisation de l'état de transition** : L'enzyme fixe l'état de transition de préférence au substrat et au produit pour des raisons de contrainte ou de distorsion.

Comme il est mentionné juste précédemment, quand le complexe enzyme - substrat est formé, il est en équilibre avec sa forme activée (c'est-à-dire, le complexe enzyme - substrat dans l'état de transition,  $ES^\ddagger$ ). L'interaction entre l'enzyme et le substrat (dans l'état de transition) déplace l'équilibre en faveur de  $ES^\ddagger$  et en même temps abaisse l'énergie d'activation.

HAUT PAGE