

Corrigé exercice 17

MODÈLE DE LA CATALYSE ENZYMATIQUE

Établissement de la loi cinétique

1) D'après le mécanisme, l'apparition de P est due uniquement à l'étape (2), donc :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = v_2$$

Comme il s'agit d'un mécanisme, les actes sont élémentaires. L'ordre est donc égal à la molécularité pour toutes les étapes, donc en particulier :

$$v_2 = k_2[SE]$$

Finalement :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[SE]$$

2) Dans l'hypothèse où les étapes (1) et (-1) constituent un équilibre rapide, on peut écrire :

$$v_1 = v_{-1}$$

Soit :

$$k_1[S][E] = k_{-1}[SE]$$

L'énoncé demande l'expression de la vitesse en fonction de la concentration de S uniquement. Il faut donc faire un bilan de matière pour exprimer [E]. D'après le mécanisme, l'enzyme que l'on a introduite se retrouve à chaque instant soit libre, soit complexée, on a donc :

$$[E]_0 = [E] + [SE]$$

En introduisant dans l'expression précédente, on obtient :

$$k_1[S][E]_0 - k_1[S][SE] = k_{-1}[SE]$$

$$[SE] = \frac{k_1[S][E]_0}{k_1[S] + k_{-1}} = \frac{[E]_0}{1 + \frac{K_M}{[S]}}$$

On peut maintenant introduire cette relation dans l'expression de la question 1 :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = \frac{k_2[E]_0}{1 + \frac{K_M}{[S]}}$$

3) Lorsqu'on se place aux temps courts (mais pas trop pour que le pré-équilibre ait le temps de s'établir), la relation précédente devient :

$$v_0 = \frac{d[P]}{dt} \Big|_{t \rightarrow 0} = \frac{k_2[E]_0}{1 + \frac{K_M}{[S]_0}}$$

4) Si on utilise l'approximation de l'état quasi-stationnaire, qui implique que SE est une espèce à courte durée de vie et à concentration restant très faible dans le milieu, alors on peut dire qu'après le temps d'induction, il est formé et consommé sensiblement à la même vitesse, soit :

$$\frac{d[SE]}{dt} = v_1 - v_{-1} - v_2 \xrightarrow{\text{AEQS}} v_1 \approx v_{-1} + v_2$$

$$k_1[S][E] = (k_{-1} + k_2)[SE]$$

Le bilan de matière en enzyme ne change pas. On voit qu'on obtient la même expression que précédemment en remplaçant k_{-1} par $(k_{-1} + k_2)$, donc en définissant la constante de Michaelis par $K_M = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1}$.

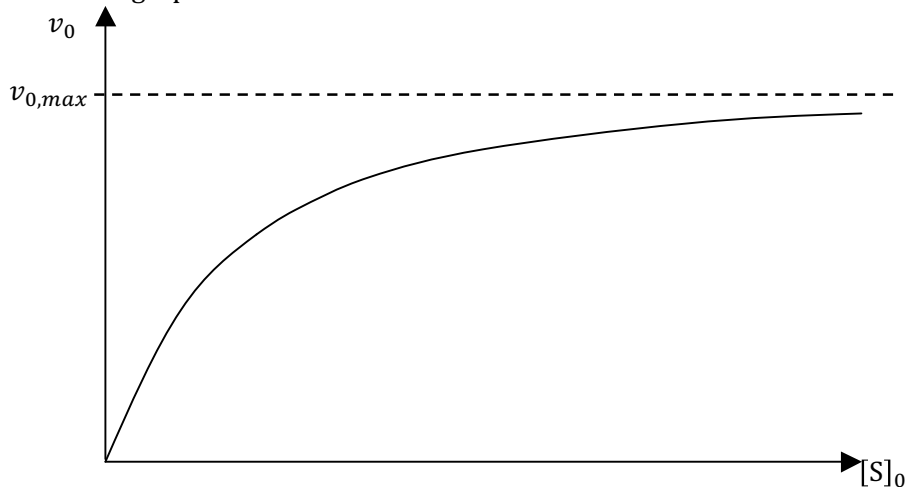
Analyse graphique

5) Quand $[S]_0$ augmente, $\frac{K_M}{[S]_0}$ diminue donc v_0 augmente : v_0 est une fonction croissante de $[S]_0$.

Pour les **faibles concentrations**, telles que $[S]_0 \ll K_M$, on a $\frac{K_M}{[S]_0} \gg 1$, donc on trouve $v_0 \approx \frac{k_2}{K_M} [E]_0 [S]_0$: v_0 est proportionnelle à $[S]_0$.

Pour les **concentrations élevées**, telles que $[S]_0 \gg K_M$, on a $\frac{K_M}{[S]_0} \ll 1$, donc v_0 tend asymptotiquement vers la valeur $v_{max} = k_2 [E]_0$.

Allure du graphe :



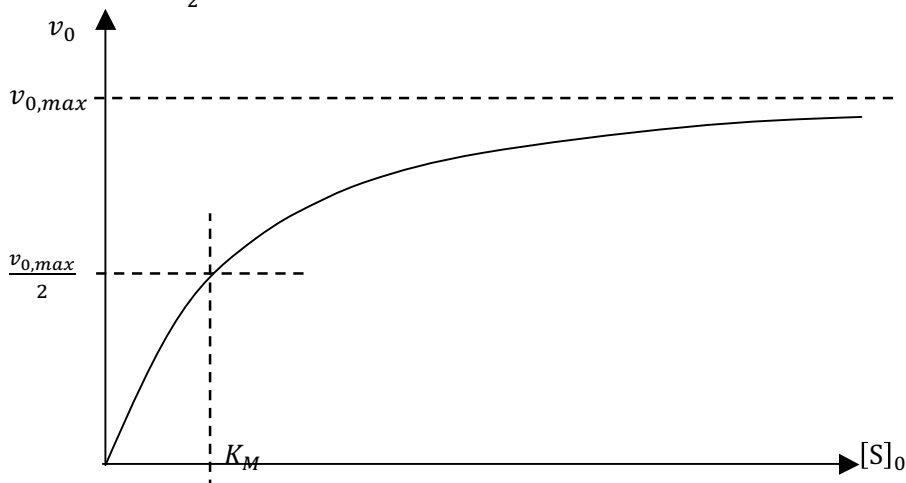
L'expression de v_0 en fonction de $v_{0,max}$ est :

$$v_0 = \frac{d[P]}{dt} \Big|_{t \rightarrow 0} = \frac{v_{0,max}}{1 + \frac{K_M}{[S]_0}}$$

6) Comme on l'a vu à la question précédente, le système change de loi cinétique limite selon que $[S]_0$ est grand ou petit devant K_M . On peut s'intéresser au cas où $[S]_0 = K_M$, on obtient alors :

$$v_0 = \frac{v_{0,max}}{2}$$

On peut donc lire la valeur de K_M sur le graphe précédent en recherchant l'abscisse du point pour lequel $v_0 = \frac{v_{0,max}}{2}$:



Plus K_M est petit, plus la valeur $\frac{v_{0,max}}{2}$ sera atteinte rapidement (c'est à dire que la vitesse augmente vite, même pour des faibles concentrations de substrat) : l'enzyme est donc plus efficace. Ceci est à relier au fait que le rapport $\frac{k_{-1}}{k_1}$ diminue exprime que le pré-équilibre devient plus favorable à la formation du complexe SE.

7) On reprend l'expression de la question 3 et on l'inverse :

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{k_2[E]_0} + \frac{K_M}{k_2[E]_0} \times \frac{1}{[S]_0}$$

Ainsi, si $[E]_0$ ne change pas entre les expériences, si on porte les points $\frac{1}{v_0}$ en fonction de $\frac{1}{[S]_0}$ sur un graphe, on obtiendra des points alignés (représentation de Lineweaver et Burke).

On réalise une régression linéaire pour obtenir :

- le coefficient directeur a , que l'on identifie à $\frac{K_M}{k_2[E]_0}$;
- l'ordonnée à l'origine b , que l'on identifie à $\frac{1}{k_2[E]_0}$.

La constante de Michaelis peut donc être déterminée en effectuant le rapport :

$$K_M = \frac{a}{b}$$

Cette méthode est beaucoup plus précise que celle de la question 6 : elle est en effet issue d'un grand nombre de mesures et d'une régression linéaire, alors qu'à la question 6 on prenait juste un point particulier, dont la précision était médiocre car il n'est pas évident de connaître $v_{0,max}$ à partir d'une évolution asymptotique...

La constante k_2 s'obtient à partir de l'ordonnée à l'origine par :

$$k_2 = \frac{1}{b[E]_0}$$