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 :

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

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 :

$$v_2 = k_2[\mathrm{SE}]$$

Finalement :

$$\boxed{v = \frac{\mathrm{d}[\mathrm{P}]}{\mathrm{d}t} = k_2[\mathrm{SE}]}$$

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

$$v_1 = v_{-1}$$

Soit :

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

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 :

$$[\mathrm{E}]_0 = [\mathrm{E}] + [\mathrm{SE}]$$

En introduisant dans l'expression précédente, on obtient :

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

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

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

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

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 :

$$\boxed{v_0 = \left.\frac{\mathrm{d}[P]}{\mathrm{d}t}\right|_{\mathrm{t}\to 0} = \frac{k_2[\mathrm{E}]_0}{1 + \frac{K_M}{[\mathrm{S}]_0}}}$$

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 :

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

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

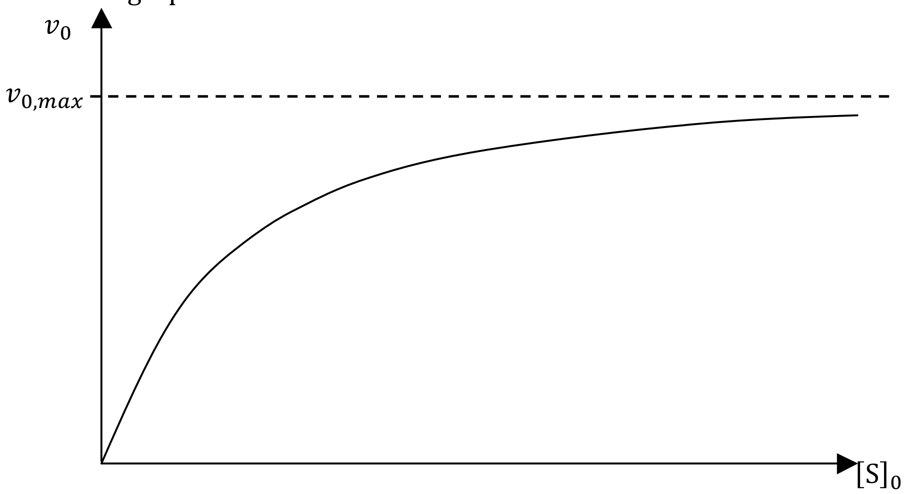
Le bilan de matière en enzyme ne change pas. On voit qu'on obtient la même expression que précédemment en remplaçant k_{-1} par $(k_{-1}+k_2)$, donc en définissant la constante de Michaelis par $K_M = \frac{(k_{-1}+k_2)}{k_1}$.

Analyse graphique

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

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

Allure du graphe :



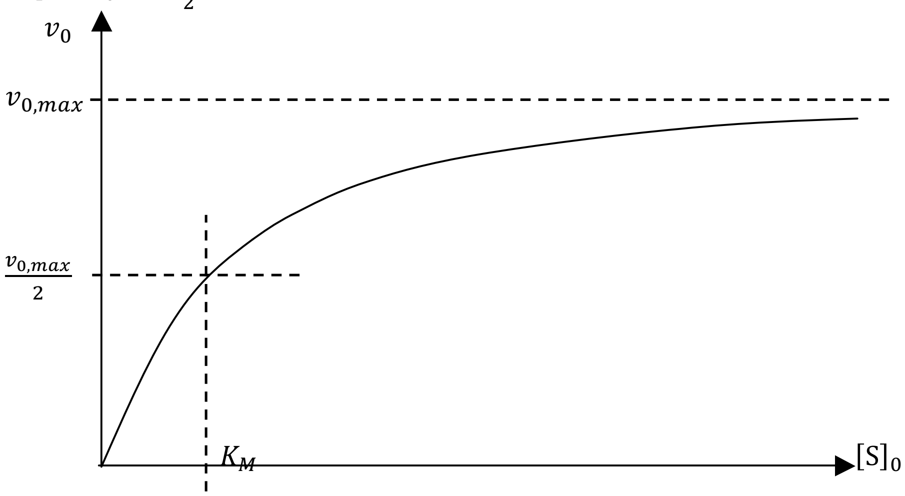
L'expression de v_0 en fonction de $v_{0,max}$ est :

$$\boxed{v_0 = \left.\frac{\mathrm{d}[P]}{\mathrm{d}t}\right|_{\mathrm{t}\to 0} = \frac{v_{0,max}}{1+\frac{K_M}{[\mathrm{S}]_0}}}$$

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

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

Ainsi, si $[\mathrm{E}]_0$ ne change pas entre les expériences, si on porte les points $\frac{1}{v_0}$ en fonction de $\frac{1}{[\mathrm{S}]_0}$ 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 $\frac{K_M}{k_2[\mathrm{E}]_0}$;
- l'ordonnée à l'origine b, que l'on identifie à $\frac{1}{k_2[\mathrm{E}]_0}$.

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

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

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 :

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