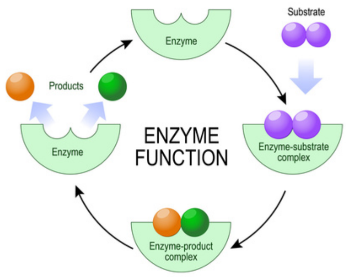
Chapitre 4

Mécanisme réactionnel



Corrigé de l'exercice 6

Exercice 6 : catalyse enzymatique

Les enzymes sont des protéines qui catalysent des réactions biologiques. Une partie bien précise de la molécule d'enzyme est efficace pour le phénomène de catalyse : c'est le site actif. Le réactif avec lequel interagit spécifiquement l'enzyme est le substrat.
Nous envisageons ici le cas le plus simple d'une réaction enzymatique à un seul substrat : nous étudions la réaction :

$$\text{S(substrat)} \longrightarrow \text{P(produit)}$$, catalysée par l'enzyme E.

Pour expliquer la transformation d'un substrat S en un produit P, on admet que le mécanisme est le suivant, proposé par Michaelis et Menten :

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES$$

$$ES \xrightarrow{k_2} P \quad (+ E)$$

L'intermédiaire formé ES est appelé "complexe Enzyme-Substrat".

En outre, on travaille toujours avec un large excès de substrat : $[S]_0 \ggg [E]_0$.

On note $[S]_0$ la concentration initiale en substrat , et $[E]_0$ la concentration initiale en enzyme.

1) Exprimer la vitesse v = $\frac{d[P]}{dt}$

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

2) Ecrire l'égalité qui traduit la conservation <u>totale</u> de l'enzyme, présente sous forme libre E ou de complexe ES.

$$[E] + [ES] = [E]_0$$

Rien de plus : l'enzyme est soit sous la forme libre E, soit sous la forme complexe ES à l'instant t.

3) En appliquant l'approximation de l'état quasi-stationnaire au complexe ES, et en utilisant le résultat ci-dessus, établir une nouvelle expression de v en fonction des constantes k_1, k_{-1} et k_2 et des concentrations $[S]_0$ et $[E]_0$.

$$\boxed{\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}.[ES] - k_2[ES]}$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 = k_1[S]([E]_0 - [ES]) - k_{-1}.[ES] - k_2[ES]$$

$$\boxed{[ES] = \frac{k_1[S][E]_0}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}}$$

Et comme [S] peut être considérée constante car : $[S]_0 \ggg [E]_0$, alors : $[S] = [S]_0$ et :

$$\boxed{[ES] = \frac{k_1[S]_0[E]_0}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}}$$

Or : $v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES]$ et en remplaçant [ES] par l'expression que nous venons d'établir :

$$\boxed{v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = k_2 \frac{k_1[S]_0[E]_0}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}}$$

$$\boxed{v = \frac{k_1 k_2[S]_0[E]_0}{k_1[S] + k_{-1} + k_2}}$$

4) Montrer que v peut se mettre sous la forme suivante :

$$v = \frac{V_M}{1 + \frac{K_M}{[S]_0}}$$

expression dans laquelle V_M est appelée "vitesse maximale" et K_M est un facteur homogène à une concentration, appelée "constante de Michaelis".

$$v = \frac{k_1 k_2 [S]_0 [E]_0}{k_1 [S]_0 + k_{-1} + k_2} = \frac{k_2 [E]_0}{1 + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 [S]_0}}$$

$$\boxed{v = \frac{k_2 [E]_0}{1 + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 [S]_0}} \quad \text{que l'on peut mettre sous la forme : } v = \frac{V_M}{1 + \frac{k_M}{[S]_0}}}$$

5) Exprimer ces deux grandeurs en fonction des constantes k_1, k_{-1} et k_2 et de la concentration $[E]_0$.

Par identification :

$$\boxed{V_M = k_2 [E]_0 \quad \text{et} \quad K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}}$$

Le but est à chaque fois de déterminer K_M. Comme souvent, on préfère des méthodes de linéarisation.

6) Donner l'expression de $\frac{1}{v}$. Montrer comment le tracé de $\frac{1}{v} = f(\frac{1}{[S]_0})$ permet d'accéder à K_M.

$$v = \frac{V_M}{1 + \frac{k_M}{[S]_0}} \qquad \frac{1}{v} = \frac{1 + \frac{k_M}{[S]_0}}{V_M} = \frac{1}{V_M} + \frac{k_M}{V_M [S]_0}$$

$$\boxed{\frac{1}{v} = \frac{1}{V_M} + \frac{k_M}{V_M [S]_0}}$$

$$\boxed{\frac{1}{v} = \frac{1}{V_M} + \frac{k_M}{V_M} \frac{1}{[S]_0}}$$

Le tracé de $\frac{1}{v} = f(\frac{1}{[S]_0})$ est une droite d'équation $y = a.(1/[S]_0) + b$

Et K_M est déduite du rapport a/b :

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