

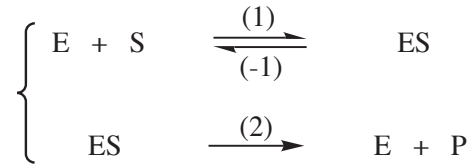
Mécanisme de la formation enzymatique des esters méthyliques

II. EXEMPLE DE MECANISME DE CATALYSE ENZYMATIQUE

Pour les réactions enzymatiques ne faisant intervenir qu'un substrat (S) et une enzyme (E), il a été observé expérimentalement que :

- La réaction est d'ordre 1 par rapport à l'enzyme.
- La réaction n'admet pas d'ordre par rapport au substrat S.
- A très faible concentration en substrat, la réaction est d'ordre 1 par rapport à S.
- A fortes concentrations en substrat, la vitesse devient indépendante de la concentration en S (elle est d'ordre 0 par rapport à S).

Pour la réaction $S \rightarrow P$, le mécanisme réactionnel proposé ci-dessous permet de rendre compte de ces observations. ES représente le complexe enzyme-substrat :



Loi de vitesse : La vitesse de la réaction vaut :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = v_2 = k_2 [ES]$$

ES est un intermédiaire réactionnel qui vérifie l'approximation des états quasi-stationnaires :

$$\frac{d[ES]}{dt} = v_1 - v_{-1} - v_2 = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0$$

L'enzyme est présent sous deux formes dans le milieu réactionnel : l'enzyme libre et l'enzyme complexée. Si $[E]_o$ est la concentration initiale en enzyme, alors :

$$[E]_o = [E] + [ES]$$

Ainsi :

$$k_1 ([E]_o - [ES]) [S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0$$

Soit :

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

La vitesse de la réaction catalysée est :

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

Lorsque la concentration en S est très importante : $\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \ll [S]$ et la vitesse de la réaction vaut : $v = k_2 [E]_o = v_{\max}$.

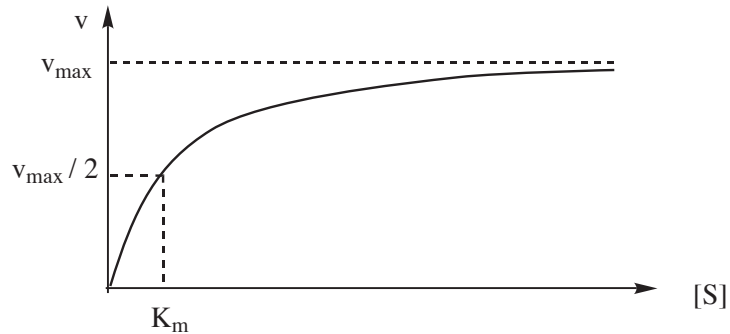
L'expression générale de la vitesse devient :

$$\boxed{v = \frac{v_{\max} [S]}{K_m + [S]}} \quad \text{avec} \quad K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad \text{et} \quad v_{\max} = k_2 [E]_o$$

Cette loi de vitesse rend bien compte des observations expérimentales : ordre 1 par rapport à l'enzyme – pas d'ordre par rapport à S – ordre 1 par rapport à S si [S] est faible – ordre nul par rapport à S si [S] est importante.

Détermination expérimentale des paramètres K_m et v_{\max}

Première méthode : le tracé de la courbe $v = f([S])$ permet de déterminer K_m et v_{\max} car $v = \frac{1}{2} v_{\max}$ pour $[S] = K_m$



Deuxième méthode : par extrapolation linéaire :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}}$$

Le tracé de la courbe $1/v = f(1/[S])$ est une droite :

- de pente K_m/v_{\max}
- d'ordonnée à l'origine $1/v_{\max}$
- d'abscisse à l'origine $-1/K_m$

