

Exercice

Les vitesses initiales d'une réaction enzymatique en fonction de concentrations variables en substrat sont données dans le tableau suivant

[S] mmol/l	125	180	247	402	798
V_i $\mu\text{mol/l min}^{-1}$	33	42	49	62	78

- 1- vérifiez que la cinétique est Michaélienne et déterminer les paramètres cinétique
- 2- Si $[S] = 250\text{mM}$, quelle est la valeur de la vitesse initiale ?
- 3- quel serait la valeur de la vitesse initiale si $[S] = 2\text{M}$?
- 4- Si $[S] = 180\text{mM}$, quelle est la vitesse initiale si la quantité d'enzyme est doublé ? et quelle est la concentration du produit formé après trois minutes ?

Correction :

1) pour vérifier que la cinétique est michaelienne (c.a.d elle obéit à la loi de Michaelis-Menten $V_i = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$) on trace la courbe des double inverse (Lineweaver-Burk) $\frac{1}{V_i} f(\frac{1}{[S]})$

$$\frac{1}{V_i} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}$$

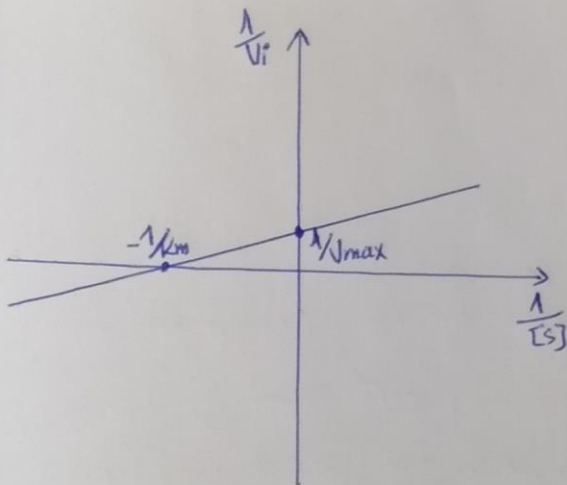
$$y = a x + b$$

$\frac{1}{[S]} \cdot 10^{-3}$	8	5,5	4,04	2,48	1,25
$\frac{1}{V_i} \cdot 10^{-2}$	3	2,3	2,04	1,6	1,2

échelle de dessin

1cm $\rightarrow 1 \times 10^{-3}$

1cm $\rightarrow 1 \times 10^{-2}$



le graphe est une droite
 $\Rightarrow$ la cinétique est michaelienne.

* détermination des paramètres cinétique (K_m et V_{max}) d'après le graphe

$$\frac{1}{V_{max}} = 1 \text{ cm} \times 10^{-2} \text{ (échelle)} \Rightarrow V_{max} = \frac{1}{1 \cdot 10^{-2}} \Rightarrow \boxed{V_{max} = 100 \mu\text{H}/\text{min}}$$

$$-\frac{1}{K_m} = -4 \text{ cm} \times 10^{-3} \text{ (échelle)} \Rightarrow K_m = \frac{1}{4 \times 10^{-3}} \Rightarrow \boxed{K_m = 250 \text{ mM}}$$

①

2) Si $[S] = 250 \text{ mM}$ $\rightarrow$ quelle est la valeur de V_i ②

on remarque que $[S] = K_m$

donc dans l'équation de Michaelis-Menten, on peut écrire :

$$V_i = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + [S]} = \frac{V_{\max} [S]}{2[S]} \Rightarrow V_i = \frac{V_{\max}}{2} = \frac{100}{2}$$

$$V_i = 50 \text{ } \mu\text{M/min}$$

3) Si $[S] = 2 \text{ M}$

on remarque que $[S] \gg K_m$ (très supérieur à K_m)

donc c'est une concentration saturante

dans les $[S]$ saturante, on a $V_i = V_{\max}$

$$\text{donc } V_i = 100 \text{ } \mu\text{M/min}$$

4) la quantité d'enzyme est doublée $\rightarrow$ donc $[E]_2 = 2[E]_1$
pour $[S] = 180 \text{ mM}$ $\rightarrow$ quelle est la V_i quand la quantité d'enzyme est doublée.

$$\text{on a } V_{\max} = k_{\text{cat}} [E]$$

$$\text{donc } V_{\max 1} = k_{\text{cat}} [E]_1 \text{ --- ①}$$

$$V_{\max 2} = k_{\text{cat}} [E]_2 \text{ --- ②}$$

on a aussi $[E]_2 = 2[E]_1$, en remplaçant ça dans ②

$$\text{on aura } V_{\max 2} = k_{\text{cat}} \times 2[E]_1$$

$$V_{\max 2} = 2 \underbrace{k_{\text{cat}} [E]_1}_{V_{\max 1}} \Rightarrow V_{\max 2} = 2 V_{\max 1}$$

$$\Rightarrow V_{\max 2} = 2 \times 100 = 200 \text{ } \mu\text{M/min}$$

+ la concentration du produit formé après 03 min ③

on a $V_{max_2} = 200 \mu M / \text{min}$

la réaction est $S \xrightarrow{E} P$ (on nous a pas précisé
ni le substrat ni le
produit)

Donc 1 mole de S donne 1 mole de P.

Selon la V_{max_2} , on a $200 \mu M$ ~~formé~~ après de
substrat transformé chaque minute, donc chaque
minute, il y a formation de $200 \mu M$ de produit

1 min $\longrightarrow$ $200 \mu M$ (S disparu ou produit formé)

3 min $\longrightarrow$ x

$$x = 200 \times 3 = 600$$

Donc après 03 minute, on a formation de
 $600 \mu M$ de produit.

Exercice

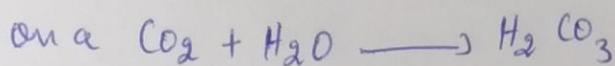
L'anhydrase carbonique des érythrocytes de PM = 30000 daltons, catalyse l'hydratation réversible du CO₂ : $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$

- 1) Si 10μg de l'anhydrase carbonique pure catalyse l'hydratation de 0.3g de CO₂ en 01 minute à 37°C, quel est le turnover (kcat) de cette enzyme ?
- 2) Calculer l'énergie d'activation de cette réaction catalysée enzymatiquement en KJ/mole sachant qu'à 47°C le kcat est doublé

①

Correction :

1) Calculez k_{cat} (le turnover) de l'enzyme.



PM = 30000 daltons, 1 dalton = 1 g/mol

on a comme donné : $[E]_{\text{Totale}} = 10 \mu\text{g}$

$V_{\text{max}} = 0,3 \text{ g de } \text{CO}_2 \text{ transformé en}$
01 minute à 37°C

$$V_{\text{max}} = k_{cat} [E]_{\text{Totale}}$$

on doit transformer V_{max} et $[E]_T$ en molarité

$$\begin{array}{lcl} 1 \text{ mole } \text{CO}_2 & \longrightarrow & 44 \text{ g} \\ n_1 & \longrightarrow & 0,3 \text{ g} \end{array} \Rightarrow n_1 = \frac{0,3}{44} = 0,00681 \text{ mole}$$

$$= 6,81 \text{ mmole}$$

$$\begin{array}{lcl} 1 \text{ mole de l'Enzyme} & \longrightarrow & 30000 \text{ g (1 dalton = 1 g/mole)} \\ n_2 & \longrightarrow & 10 \mu\text{g} \end{array}$$

$$\Rightarrow n_2 = \frac{10 \cdot 10^{-6} \text{ g}}{3 \times 10^4} \Rightarrow n_2 = 3,33 \times 10^{-10} \text{ mole}$$

$$n_2 = 3,33 \times 10^{-7} \text{ mmole.}$$

$$V_{\text{max}} = k_{cat} \times [E]_T$$

$$k_{cat} = \frac{V_{\text{max}}}{[E]_T} = \frac{6,81 \text{ mmole/min}}{3,33 \cdot 10^{-7} \text{ mmole}}$$

k_{cat}	$= 2,04 \times 10^7 \text{ min}^{-1}$
ou	
k_{cat}	$= 34 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$

2) calculez l'énergie d'activation

à $37^{\circ}\text{C} \rightarrow k_{cat1} = 2,04 \cdot 10^7 \text{ min}^{-1}$

à $47^{\circ}\text{C} \rightarrow k_{cat2} = 2 k_{cat1}$

loi d'Arrhenius : $k_{cat} = A \cdot e^{-E_a/RT}$

$$\ln k_{cat} = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (\text{linéarisation})$$

à 37°C on a $\ln k_{cat1} = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T_1} \dots \dots \dots \textcircled{1}$

à 47°C on a $\ln k_{cat2} = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T_2} \dots \dots \dots \textcircled{2}$

$$\textcircled{2} - \textcircled{1} \Rightarrow \ln k_{cat2} - \ln k_{cat1} = \ln A - \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T_2} - \ln A + \frac{E_a}{R} \cdot \frac{1}{T_1}$$

$$\Rightarrow \ln \frac{2 k_{cat1}}{k_{cat1}} = \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

$$\Rightarrow \ln 2 = \frac{E_a}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

$$R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$$

$$T_1 = 37^{\circ}\text{C} = 37 + 273 = 310 \text{ K} \quad (\text{temperature absolue en Kelvin})$$

$$T_2 = 47^{\circ}\text{C} = 47 + 273 = 320 \text{ K}$$

$$\Rightarrow E_a = \frac{R \cdot \ln 2}{\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}} = \frac{8,314 \times 0,69}{\left(\frac{1}{310} - \frac{1}{320} \right)}$$

$$E_a = 5,71 \cdot 10^4 \text{ J/mole}$$

$$\boxed{E_a = 57,1 \text{ KJ /mole}}$$