



Cours pour Etudiants de Licence de toxicologie

Département de Biologie Physico-Chimique, Faculté des sciences de la Nature et de la vie SNV, Université de Bejaia

Matière: Enzymologie appliquée
Cours : Cinétique enzymatique à un seul substrat
Equation de Michaelis Menten

Responsable de la matière et chargée de cours:
Pr. KHETTAL Bachra

Email: bachra.khettal@univ-bejaia.dz

Laboratoire de Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Université de Bejaia

Avant-propos

- Les mesures cinétiques sont parmi les outils les plus puissants pour élucider les mécanismes enzymatiques. C'est donc un des aspects les plus importants de l'enzymologie;
- ces mesures nous informent sur la spécificité de la réaction enzymatique et sur les caractéristiques cinétiques et physiques de l'enzyme.
- En pratique, ces mesures sont essentielles en biochimie clinique, puisqu'elles permettent de détecter des anomalies pathologiques.

Observations expérimentales

A-Effet de [S] sur v

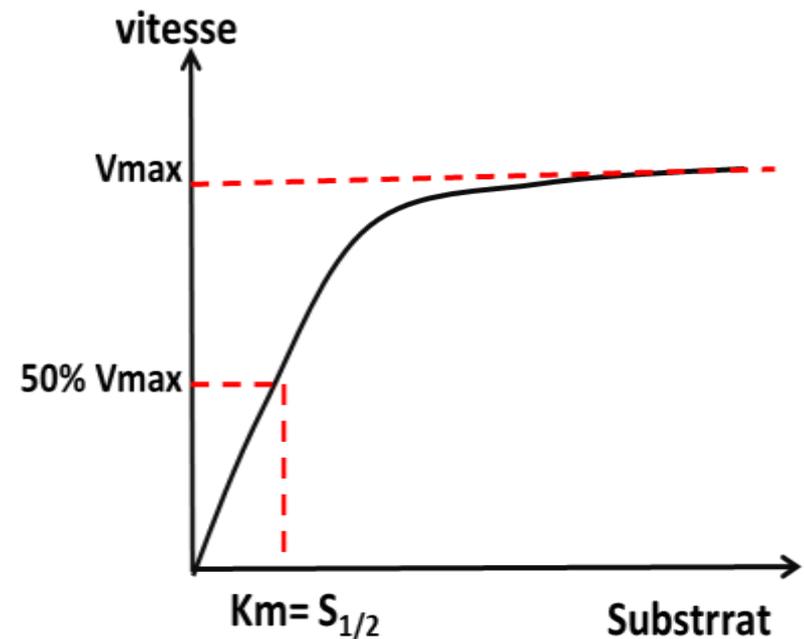
- En 1902 quand A. Brown étudie la vitesse de :



Montra qu'à [invertase] \ll [saccharose]

- La vitesse de la réaction devient indépendante de la concentration de saccharose ou ordre zéro par rapport au saccharose à concentration du saccharose élevée
- $V = \text{fct} [\text{saccharose}]$ relation hyperbole rectangulaire

$$v = \frac{V_{\max} \times S}{K_m + S}$$



Observations expérimentales

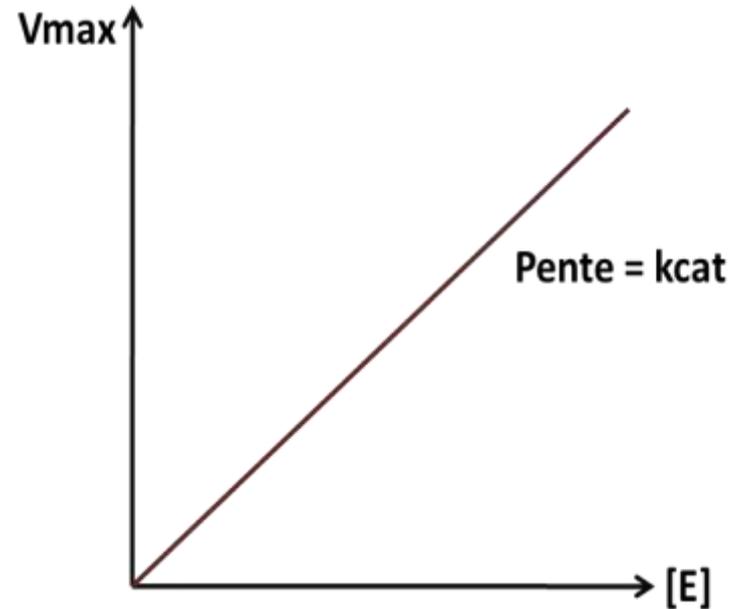
B- Effet de [E] sur la vitesse

A $[S] \gg [E] \rightarrow$ on mesure V_{max} en fonction de $[E]$

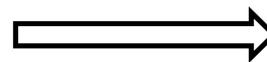
On observe:

V_{max} est proportionnelle à la concentration de l'enzyme
 $V_{max} = k_{cat} [E]$

k_{cat} : constante catalytique
 K_{cat} constante de vitesse ordre 1



$$v = \frac{V_{max} \times S}{K_m + S}$$



$$v = \frac{k_{cat} [E] [S]}{K_m + [S]}$$

Equation de Michaelis Menten

Modélisation de la cinétique enzymatique: Equation de vitesse de Michaelis Menten

D'après la relation de la vitesse et la concentration du substrat , Brown proposa que la réaction globale est composée de deux réactions élémentaires :



Selon ce modèle, lorsque la concentration de substrat devient suffisamment importante afin de capter toute l'enzyme sous forme ES , la deuxième étape de la réaction devient **limitante** et la réaction globale devient insensible aux augmentations supplémentaires en concentration de substrat.

v est défini par le changement dans la concentration du produit final par unité de temps. $v = - dS/dt = dP/dt$

La vitesse globale de la réaction est: $v = d[P]/dt = k_2 [ES]$

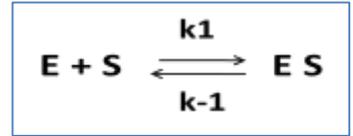
La vitesse de production de ES: $d[ES]/dt = k_1 [E][S] - k_{-1}[ES] - k_2 [ES]$

Approximations simplifiées:



1. Model du quasi-équilibre (Léonure Michaelis et Maud Menten, 1913)

Approximation que $k_{-1} \gg k_2 \Rightarrow$ Equilibre rapide pour la formation de ES:



Dont la constante de dissociation K_s est:

$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[E] \times [S]}{[ES]}$$

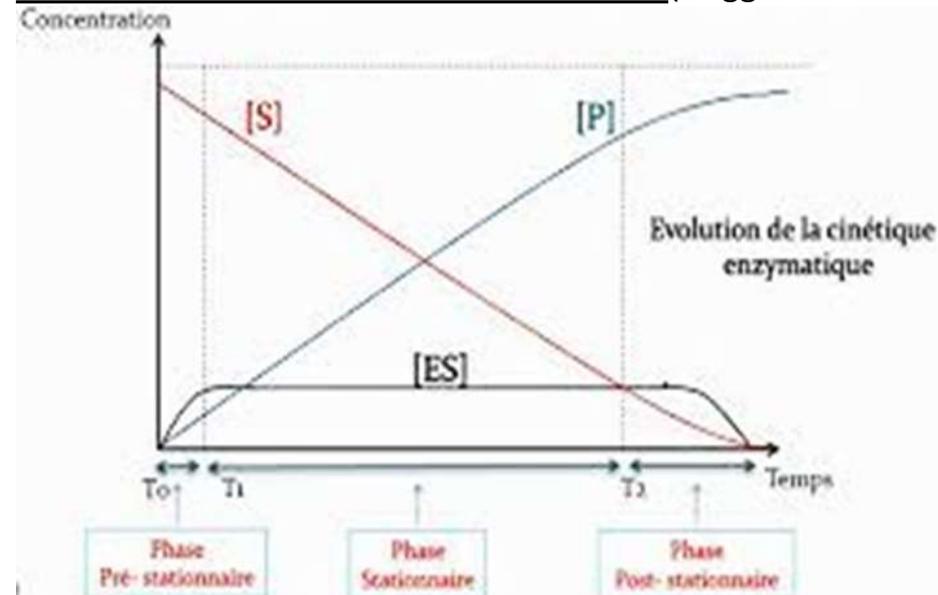
On obtient:

$$v = \frac{V_{max} \times S}{K_m + S}$$

Avec: $V_{max} = k_{cat} [E]$, $k_{cat} = k_2$

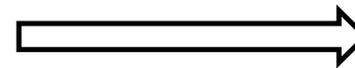
Constante de Michaelis $K_m = K_s$

2. Model de l'État stationnaire (Briggs et Haldane en 1925).



$$[S] \gg [E_t]$$

$$d[ES]/dt \approx 0$$

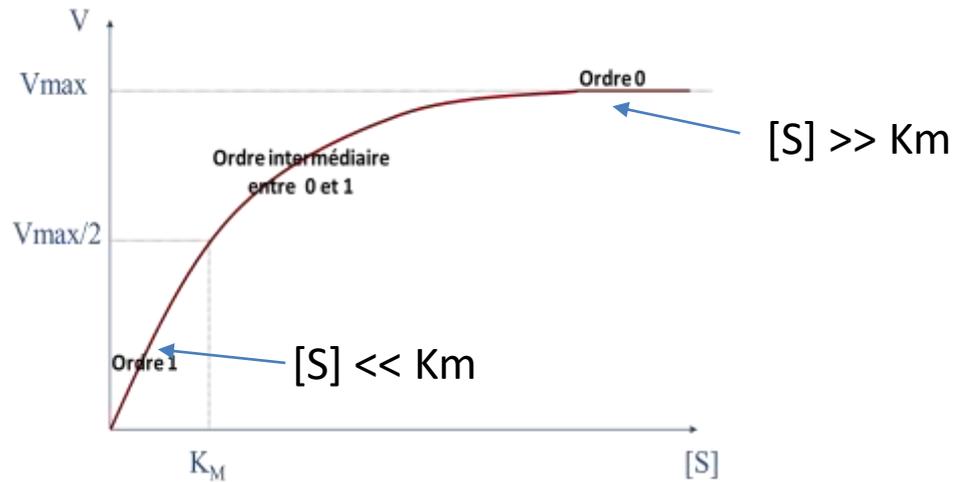


$$v = \frac{V_{max} \times S}{K_m + S}$$

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

CINÉTIQUE MICHAELIENNE

$$v_0 = v_{max} \cdot \frac{[S]}{[S] + K_M}$$



SIGNIFICATION PHYSIQUE DES PARAMETRE CINETIQUES

A- Constante catalytique (k_{cat}): $k_{cat} = V_{max} / [E]_{total}$
 k_{cat} représente l'activité enzymatique molaire ou moléculaire c'est le taux de renouvellement de l'enzyme. c'est à dire le nombre de substrat converti en produit par molécule d'enzyme et par unité de temps. k_{cat} est exprimée en unité de temps⁻¹

B- Constante de Michaelis-Menten:

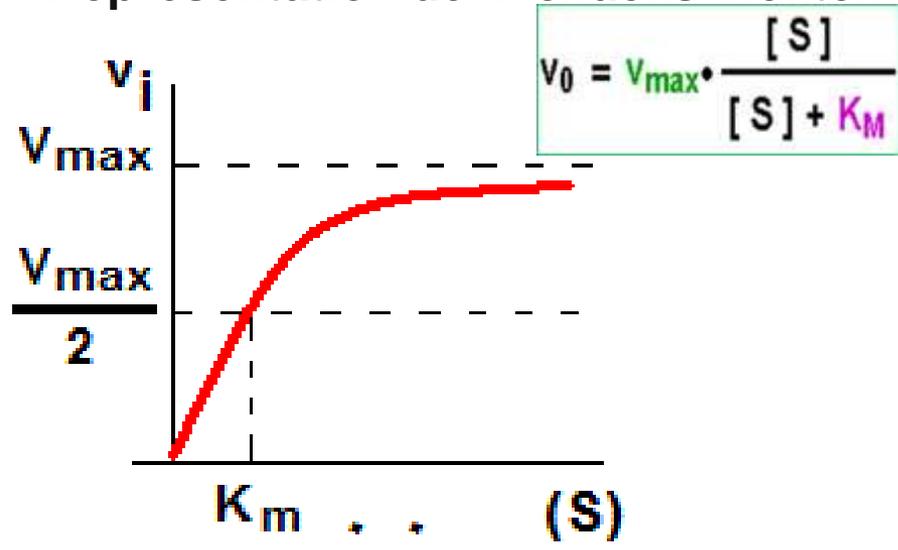
- K_m représente la concentration de Substrat (S_{50}) qui sature 50% des sites enzymatiques: $K_m = [S]_{50}$ Et pour $[S] = [S]_{50}$, $v_i = V_{max}/2$
 K_m est exprimée en unité de concentration (mol/L)
- K_m peut représenter la Constante de dissociation du complexe ES, K_s

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_s + \frac{k_2}{k_1}$$
 Si $k_2 \ll k_1 \Rightarrow k_2/k_1 \approx 0 \Rightarrow K_m \approx K_s$
- K_m permet d'évaluer l'affinité de liaison du substrat sur son site enzymatique.
 K_m élevé \Rightarrow l'affinité faible

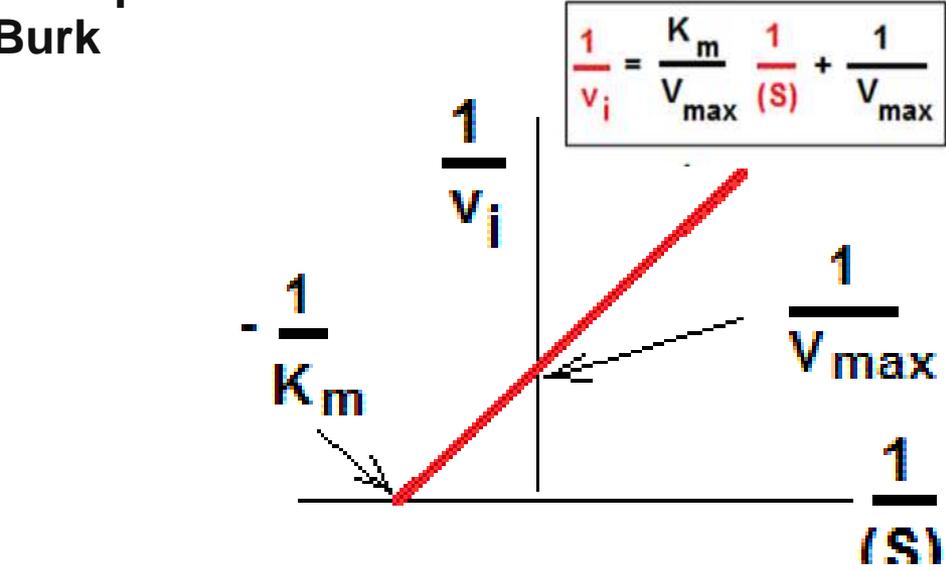
C- Constante de spécificité: k_{cat}/K_m
 Elle représente le critère d'efficacité globale de l'enzyme:
 $k_{cat}/K_m = 10^8 - 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1} \Rightarrow$ **Enzyme à perfection catalytique**

Détermination des paramètres cinétiques : la constante de Michaelis K_m et de V_{max}

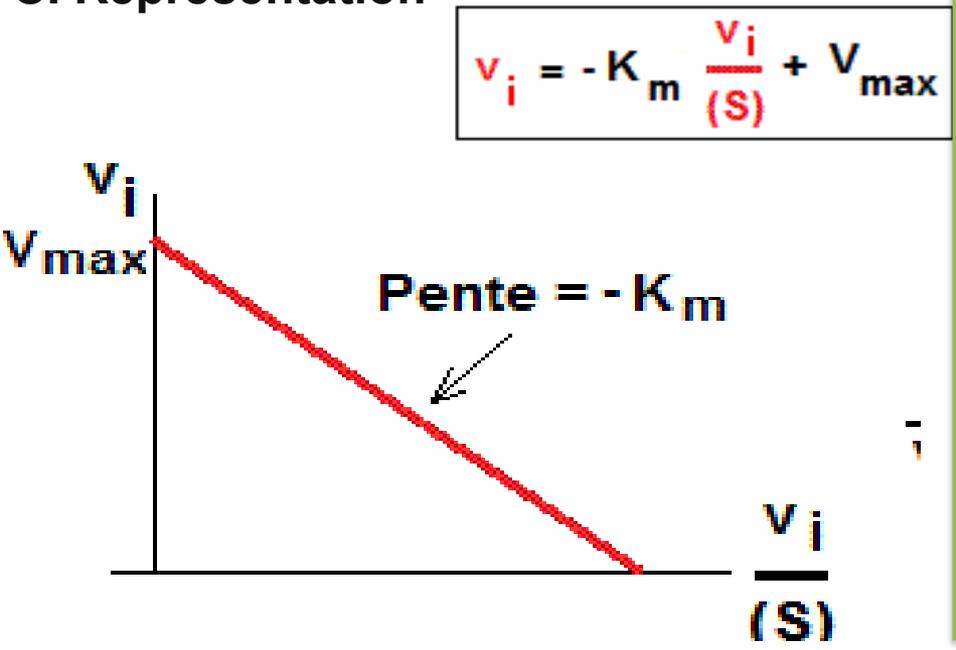
A. Représentation de Michaelis-Menten



B. Représentation de Lineweaver et Burk



C. Représentation d'Edel-Hofsten



D. Représentation d'Hanes-Woolf

