

Corrigé exercice 6

ÉTUDE DU MODE D'ACTION D'UNE ENZYME DIGESTIVE

1) La protéine en en bas, en grisé. Elle est insérée dans le site actif de l'enzyme.

La liaison peptidique est à côté de l'acide aminé noté « Ser195 » comme l'indique l'énoncé.

La poche hydrophobe est le site actif de l'enzyme, qui accueille facilement le substrat. Si elle est qualifiée d'hydrophobe, c'est qu'il n'y a probablement pas de groupe OH dans le site actif et que celui-ci est probablement peu polaire, ce qui doit optimiser les interactions de van der Waals avec le substrat.

2) On recherche :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = v_3$$

Les hypothèses sont :

- approximation de l'équilibre rapide pour l'association enzyme-substrat. On applique donc la loi de Guldberg et Waage : $K = \frac{[ES]c^{\circ}}{[E][S]}$

- AEQS sur ES', ce qui conduit à : $v_2 \approx v_3$

On en tire :

$$v = v_3 = v_2 = k_2 \cdot [ES] = \frac{k_2 K}{c^{\circ}} \cdot [E] \cdot [S]$$

Or en début de réaction, comme on est en grand excès de S et que [S] n'a pas eu le temps de varier notablement, on peut écrire : $[S] \approx [S]_0$.

En revanche, l'enzyme s'est mise en équilibre rapide avec le substrat et les complexes sont en régime quasi-stationnaire ; on exprime donc la répartition des différentes formes de l'enzyme par : $[E]_0 = [E] + [ES] + [ES']$

Or $v_2 = v_3$ implique : $k_2[ES] = k_3[ES']$, donc : $[E]_0 = [E] + [ES] + \frac{k_2}{k_3}[ES]$

Et en remplaçant [ES] grâce à la loi de Guldberg et Waage on trouve :

$$[E]_0 = [E] \left(1 + \frac{K}{c^{\circ}} [S]_0 \left(1 + \frac{k_2}{k_3} \right) \right) = [E] \left(1 + \frac{K}{c^{\circ}} \cdot \frac{k_2 + k_3}{k_3} \cdot [S]_0 \right)$$

Finalement :

$$v_0 = \frac{k_2 K}{c^{\circ}} \cdot \left(\frac{[E]_0}{1 + \frac{K}{c^{\circ}} \cdot \frac{k_2 + k_3}{k_3} \cdot [S]_0} \right) \cdot [S]_0$$

Soit, sous la forme demandée :

$$v_0 = \frac{\frac{k_2 k_3}{k_2 + k_3} \cdot [E]_0 \cdot [S]_0}{[S]_0 + \frac{k_3 c^{\circ}}{K(k_2 + k_3)}}$$

On obtient :

$$v_0 = \frac{k_{cat} [E]_0 [S]_0}{[S]_0 + K_M}$$

avec : $k_{cat} = \frac{k_2 k_3}{k_2 + k_3}$
et la constante de Michaelis : $K_M = \frac{k_3 c^{\circ}}{K(k_2 + k_3)}$

3) Quand $[S]_0$ devient assez grand, le dénominateur tend vers $[S]_0$, donc v_0 tend vers v_{max} telle que :

$$v_{max} = k_{cat} \cdot [E]_0$$

Cette situation traduit la saturation de l'enzyme en substrat, la vitesse étant alors limitée par la concentration $[E]_0$ qu'on a choisie pour l'enzyme.

4) La constante de Michaelis K_M représente la valeur de la concentration en substrat $[S]_0$ qui permet d'obtenir la vitesse $v_0 = \frac{v_{max}}{2}$.

Autrement dit, plus K_M est petite, moins il faut de substrat pour atteindre une vitesse appréciable. Cette constante traduit donc **l'affinité du substrat pour l'enzyme**.

On peut retrouver cela en exprimant :

$$K_M = \frac{k_3 c^o}{K(k_2 + k_3)} = \frac{k_3 [E][S]}{[ES](k_2 + k_3)} = \frac{[E][S]}{[ES] \left(1 + \frac{k_2}{k_3}\right)} = \frac{[E][S]}{[ES] \left(1 + \frac{[ES']}{[ES]}\right)}$$
$$K_M = \frac{[E][S]}{[ES] + [ES']}$$

Une constante de Michaelis plus petite signifie donc que la somme des concentrations des formes complexées $[ES] + [ES']$ est grande devant la concentration de la forme non complexée $[E]$, donc que l'enzyme a une forte tendance à s'associer au substrat plutôt qu'à rester libre.

5) Si $k_2 \gg k_3$, on trouve : $k_{cat} \approx k_3$, donc $v_{max} = k_3 \cdot [E]_0$

Ceci traduit que l'étape 3, c'est-à-dire l'hydrolyse de la fonction ester, est **l'étape cinétiquement déterminante de ce mécanisme**, la plus difficile cinétiquement.