Analyse des cinétiques de la catalyse enzymatique par le mécanisme de Michaelis-Menten

Loi de vitesse pour la réaction de catalyse enzymatique $E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{k_2} E+P$

$$-\frac{d[S(t)]}{dt} = k_1[E(t)][S(t)] - k_{-1}[ES(t)] \tag{1}$$

$$\frac{d[ES(t)]}{dt} = k_1[E(t)][S(t)] - k_{-1}[ES(t)] - k_2[ES(t)] \tag{2}$$

$$\frac{d[P(t)]}{dt} = k_2[ES(t)] \tag{3}$$

$$-\frac{d[E(t)]}{dt} = k_1[E(t)][S(t)] - k_{-1}[ES(t)] - k_2[ES(t)] \tag{4}$$

Dans ce type de réaction on a $[E(t)]<<[S(t)]$, en plus de k_1 et $k_{-1}>> k_2$. Ces conditions sont en tout point identiques à celles dérivées pour le cas d'un pré-équilibre. Par analogie, on peut ainsi appliquer l'approximation de l'état stationnaire :

$$\frac{d[ES(t)]}{dt} = k_1[E(t)][S(t)] - (k_{-1} + k_2)[ES(t)] = 0 \text{ ainsi, } [ES(t)] = \frac{k_1[E(t)][S(t)]}{k_{-1} + k_2} \tag{5}$$

La stochiométrie indique que $[E_o]=[E(t)]+[ES(t)]$ ainsi, $[E(t)]= [E_o]-[ES(t)]$ qui peut être substituée dans (5) pour obtenir

$$[ES(t)] = \frac{k_1([E_o] - [ES(t)])[S(t)]}{k_{-1} + k_2} \tag{6}$$

$$(k_{-1} + k_2)[ES(t)] = k_1([E_o] - [ES(t)])[S(t)] = k_1[E_o][S(t)] - k_1[ES(t)][S(t)] \tag{7}$$

$$(k_{-1} + k_2)[ES(t)] + k_1[ES(t)][S(t)] = [ES(t)]\{(k_{-1} + k_2) + k_1[S(t)]\} = k_1[E_o][S(t)] \tag{8}$$

$$[ES(t)] = \frac{k_1[E_o][S(t)]}{(k_{-1} + k_2) + k_1[S(t)]} \tag{9}$$

Cette relation peut ainsi être substituée dans (3)

$$\frac{d[P(t)]}{dt} = \frac{k_1 k_2[E_o][S(t)]}{(k_{-1} + k_2) + k_1[S(t)]} \equiv \frac{V_M[S(t)]}{K_M + [S(t)]} \text{ où } V_M = k_2[E_o] \text{ et } K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \tag{10}$$

V_M est la vitesse maximum pour la concentration d'enzyme $[E_o]$ et K_M est la constante de Michaelis. Cette relation est souvent exprimée comme

$$\frac{1}{\frac{d[P(t)]}{dt}} = \frac{1}{Vitesse\ de\ réaction} = \frac{1}{V_M} + \frac{K_M}{V_M}\frac{1}{[S(t)]} \tag{11}$$

On utilise dès lors la méthode des vitesses initiales pour éviter toute interférence (inhibition) par les produits et la pente d'un tracé de Lineweaver-Burk [(Vitesse initiale)$^{-1}$ vs $[S(t)]^{-1}$) fournit K_M/V_M alors que son ordonnée à l'origine indique la valeur de $1/V_M$. Graphiquement, pour K_M=V_M=1,