

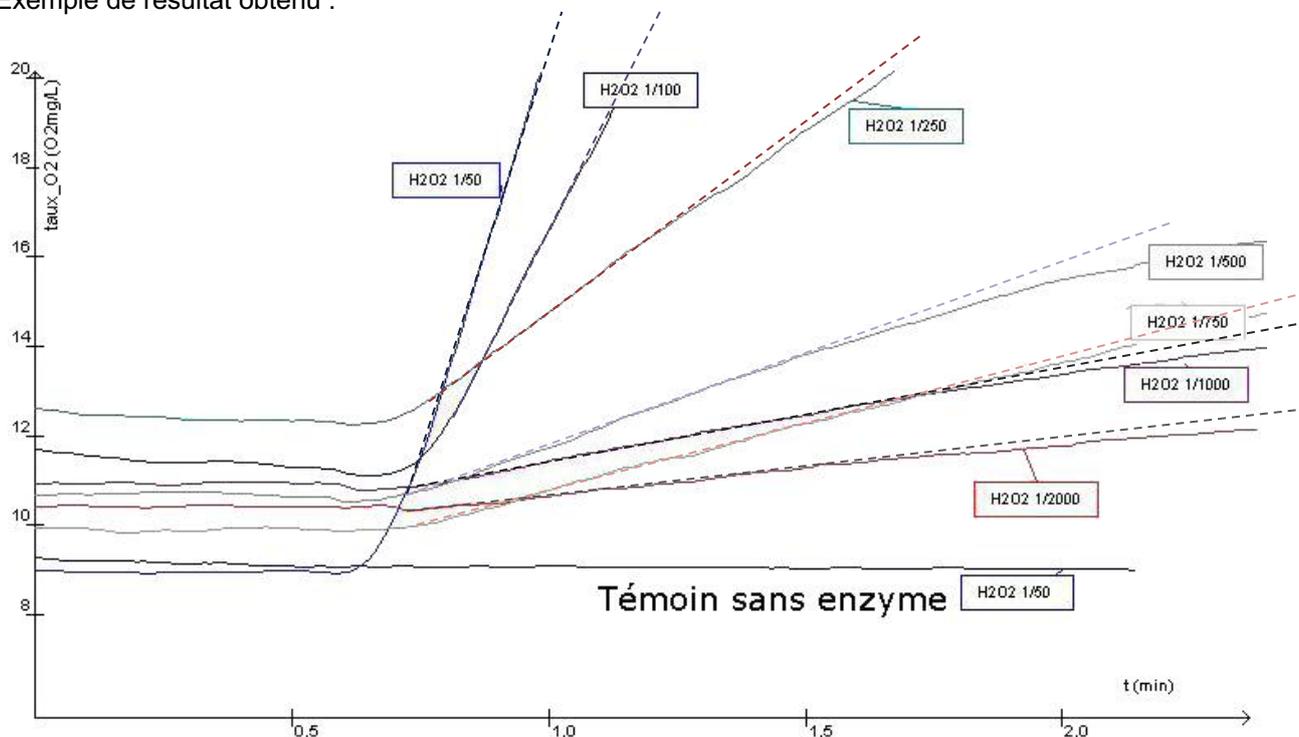
Une enzyme présente une double spécificité, spécificité d'action et spécificité de substrat : elle catalyse la réalisation d'un seul type de réaction chimique et ne prend en charge qu'un seul type de substrat. **On cherchait à déterminer comment une enzyme agit pour transformer son substrat.**

L'influence du substrat sur l'activité de l'enzyme

La **vitesse initiale** d'une réaction enzymatique fournit une mesure de l'activité d'une enzyme (voir document 1). Le modèle de l'action enzymatique présenté dans le document 1 suppose qu'une interaction physique entre l'enzyme et son substrat est nécessaire pour que l'enzyme catalyse la réaction. On cherchait à valider ce modèle. **Dans un premier temps, il s'agissait préciser l'effet de la concentration du substrat sur la vitesse initiale de la réaction en prenant comme exemple la catalase. Cette enzyme catalyse la transformation de deux molécules de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en $H_2O + O_2$.**

Nous avons mis la catalase en présence de peroxyde d'hydrogène (substrat noté S) et mesuré la production de dioxygène, produit de la réaction, en faisant varier la concentration initiale du substrat (notée [S]).

Exemple de résultat obtenu :



Dans cet exemple, la concentration du substrat est notée en dilution par rapport à une solution de référence qui est la plus concentrée. Par exemple, la concentration 1/50 signifie que la solution ajoutée est diluée 50 fois par rapport à la solution de référence. Dans chaque cas, l'enzyme a été ajoutée à $t=0,5$ minute.

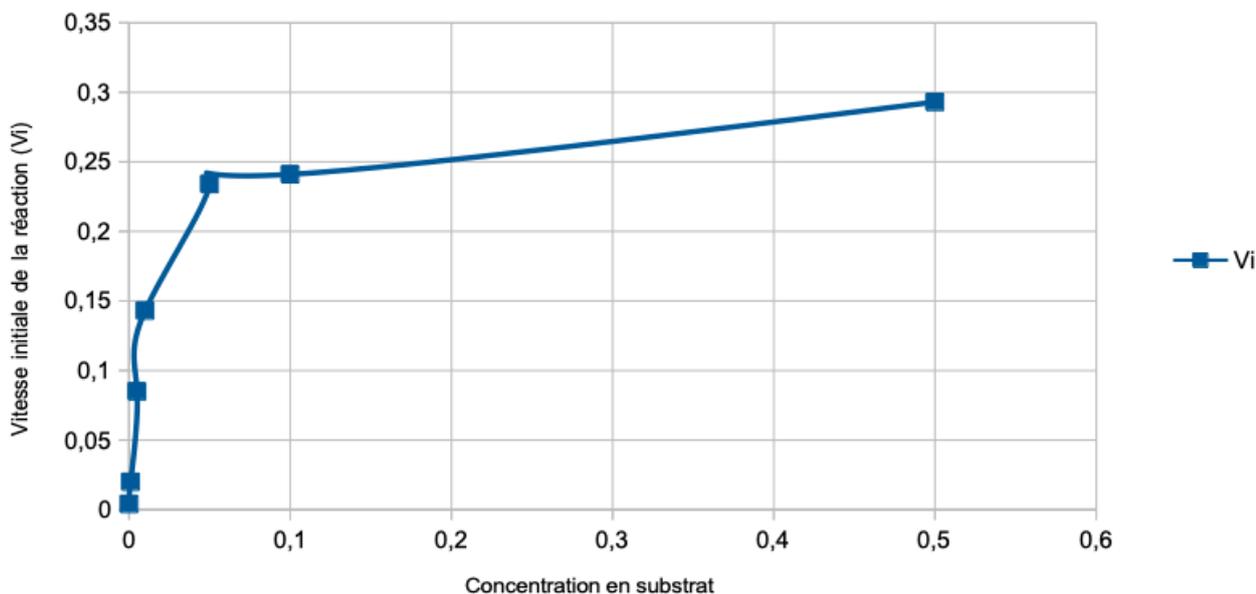
Je vois que plus la concentration du substrat est faible, plus la pente de la courbe de dégagement de dioxygène est faible, autrement dit, plus la vitesse initiale V_i de la réaction est faible. J'en déduis que **plus la quantité de substrat disponible augmente, plus la vitesse initiale de la catalyse enzymatique est élevée**. On peut expliquer ainsi cette influence de la concentration du substrat : plus la concentration du substrat est élevée, plus **la probabilité que l'enzyme rencontre le substrat est grande**, et ainsi plus la réaction catalysée par l'enzyme a de chances de se produire.

Nous avons ensuite complété cette étude en exploitant les résultats obtenus à partir d'un autre exemple : l'enzyme glucose oxydase et ses substrats : le glucose et le dioxygène. Nous avons

tracé la courbe de la vitesse initiale de la réaction en fonction de la concentration du substrat à partir des données du livre p.126.

Résultat :

Effet de la concentration en substrat sur la vitesse initiale d'une réaction enzymatique



Je vois que plus la concentration du substrat est grande, plus la vitesse initiale de la réaction augmente, cela confirme les conclusions du travail réalisé avec la catalase.

Mais je vois aussi qu'au-delà d'une certaine concentration de substrat, l'augmentation de la vitesse initiale est très faible (elle devient même nulle). J'en déduis qu'il existe une quantité de substrat à partir de laquelle l'ajout de substrat ne permet plus d'augmenter la vitesse de la catalyse enzymatique. On peut expliquer cela ainsi : toutes les enzymes ont rencontré une molécule de substrat et formé un complexe avec elle, les autres molécules de substrat sont donc en excès par rapport aux capacités de transformation des enzymes présentes.

Pour finir, nous avons exploité une version numérique du modèle décrit dans le document 1, avec comme exemple d'enzyme la maltase dont le substrat est le maltose. Nous avons et réalisé plusieurs simulations en faisant varier la concentration initiale de maltose. Le tableau ci-dessous fournit un exemple de résultats :

Nombre d'unité de substrat (maltose) à t=0	Pente de la courbe (qui correspond à Vi)
50	0,15
100	0,22
200	0,31
300	0,35
400	0,25

Tableau des résultats obtenus avec le modèle numérique de réaction enzymatique (maltase)

Les résultats du modèle confirment dans une certaine mesure nos résultats précédents :

- jusqu'à une quantité de substrat d'environ 400 unités, l'ajout de substrat permet d'augmenter la vitesse initiale de la catalyse. Nous pouvons l'expliquer en remarquant que cela augmente la probabilité de la rencontre de l'enzyme avec son substrat.
- l'augmentation de la vitesse obtenue est cependant moins forte entre 200 et 300 qu'entre 100 et 200 unités de substrat. Cela peut être dû au fait que la plupart des enzymes sont occupées par le substrat et qu'une partie du substrat ajouté se retrouve en excès par rapport aux enzymes disponibles.

Cependant, contrairement à ce que l'on observe avec de vraies enzymes, on observe que la vitesse initiale de la catalyse diminue lorsque la quantité de substrat est très élevée. Cela est dû au fait que **dans le modèle, le substrat ne peut plus se déplacer** et rencontrer l'enzyme car les cases voisines sont occupées. Cette observation nous montre **qu'un modèle est utile pour confirmer nos hypothèses, mais qu'il a toujours des défauts.**

Document 1. La vitesse d'une réaction enzymatique

En 1913, Leonor Michaelis et Maud Menten réalisent une série d'expériences afin de modéliser le mécanisme d'action d'une enzyme sur son substrat. À l'époque de Michaelis et Menten, la nature protéique des enzymes n'était pas encore connue. Michaelis et Menten supposent que l'enzyme forme avec son substrat un **complexe** qui se sépare ensuite pour donner l'enzyme libre et le(ou les) produit(s) :

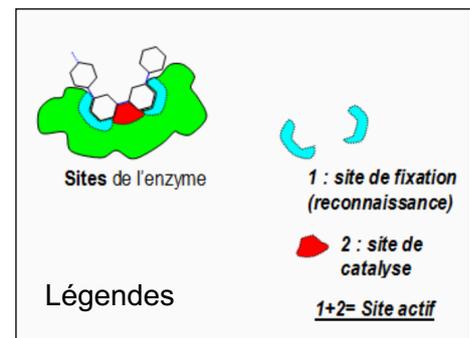
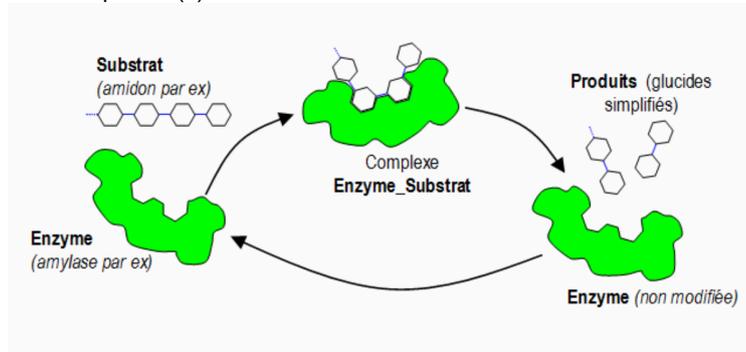


E : enzyme ;

S : substrat ;

ES : complexe enzyme-substrat ;

P : produit(s)



Au cours d'une réaction enzymatique, la quantité de substrat diminue au fur et à mesure de son déroulement, tandis que la quantité de produit augmente.

La **vitesse de la réaction** est la quantité de substrat transformé par unité de temps. On constate toujours que cette vitesse diminue au cours du temps : à chaque instant, elle correspond à la pente (coefficient directeur) de la tangente à la courbe en ce point. Ce coefficient directeur sera négatif si l'on étudie la quantité de substrat restant au cours de la réaction et positif si l'on étudie la quantité de produit formé.

La **vitesse maximale** d'une réaction enzymatique est donc la **vitesse initiale (V_i)** de la réaction.

La vitesse initiale (V_i) peut se déterminer graphiquement par le tracé de la **tangente à l'origine de la courbe** : elle est égale à la pente (coefficient directeur) de cette tangente (en valeur absolue).