

CINÉTIQUE ENZYMATIQUE

Athel CORNISH-BOWDEN
Marc JAMIN
Valdur SAKS

Grenoble Sciences

Grenoble Sciences poursuit un triple objectif :

- réaliser des ouvrages correspondant à un projet clairement défini, sans contrainte de mode ou de programme,
- garantir les qualités scientifique et pédagogique des ouvrages retenus,
- proposer des ouvrages à un prix accessible au public le plus large possible.

Chaque projet est sélectionné au niveau de Grenoble Sciences avec le concours de referees anonymes. Puis les auteurs travaillent pendant une année (en moyenne) avec les membres d'un comité de lecture interactif, dont les noms apparaissent au début de l'ouvrage. Celui-ci est ensuite publié chez l'éditeur le plus adapté.

(Contact : Tél. : (33)4 76 51 46 95 - E-mail : Grenoble.Sciences@ujf-grenoble.fr)

Deux collections existent chez EDP Sciences :

- la **Collection Grenoble Sciences**, connue pour son originalité de projets et sa qualité
- **Grenoble Sciences - Rencontres Scientifiques**, collection présentant des thèmes de recherche d'actualité, traités par des scientifiques de premier plan issus de disciplines différentes.

Directeur scientifique de Grenoble Sciences

Jean BORNAREL, Professeur à l'Université Joseph Fourier, Grenoble 1

Comité de lecture pour *Cinétique enzymatique*

- ▶ Serge CHESNE, Maître de Conférences à l'Université de La Réunion
 - ▶ Jean-Marie FRÈRE, Professeur à l'Université de Liège
 - ▶ Michel VAN DER REST, Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Lyon,
Directeur-adjoint de la Recherche
- et
- ▶ Julien BRÉVIER

Grenoble Sciences reçoit le soutien du **Ministère de l'Éducation nationale**,
du **Ministère de la Recherche**, et de la **Région Rhône-Alpes**.

Réalisation et mise en pages : **Centre technique Grenoble Sciences**

Illustration de couverture : **Alice GIRAUD**

à partir d'une image originale représentant la structure de la créatine kinase fournie par le Professeur Theo WALLIMANN et le Docteur Uwe SCHLATTNER de ETH de Zurich (Suisse)

ISBN 2-86883-742-5

© EDP Sciences, 2005

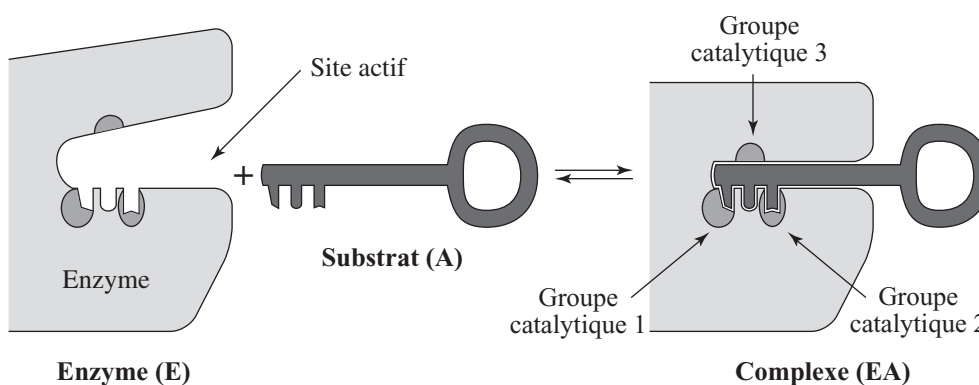
©Portland Press, Ltd. London, 2004

This translation of portions of **FUNDAMENTALS OF ENZYME KINETICS** first published in (1995, 2004) is published by arrangement with Portland Press, London

EXTRAITS

Les progrès dans l'étude des mécanismes enzymatiques ont conduit au développement d'un second modèle décrivant l'interaction entre le substrat et l'enzyme. Le premier, illustré dans la figure 3.2, a été introduit par FISCHER et repose sur l'existence d'une complémentarité entre le substrat et le site actif de l'enzyme qui peut être comparée à celle existant entre une clé et une serrure. Le second modèle, proposé ultérieurement par KOSHLAND, implique un changement de conformation du site actif de l'enzyme lors de la fixation du substrat.

Ce modèle est connu sous le nom d'*ajustement induit* (*induced-fit*) et est illustré dans la figure 3.5. Ce modèle implique que l'enzyme sélectionne spécifiquement son substrat, non sur la base d'une complémentarité statique entre l'enzyme et le substrat, mais en agissant comme des « pinces » qui se renferment pour piéger le substrat. L'enzyme devient actif uniquement dans sa forme fermée impliquant une régulation de l'activité par la fixation du substrat.

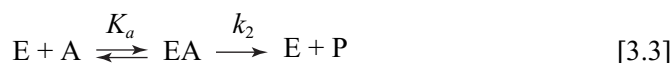


3.5 - Illustration du mécanisme d'ajustement induit proposé par KOSHLAND

3.2. DESCRIPTION CINÉTIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES DANS DES CONDITIONS D'ÉQUILIBRE

3.2.1. La première équation cinétique : l'équation de HENRI

Comme nous l'avons vu ci-dessus, HENRI a dérivé la première équation de vitesse représentant correctement le mécanisme d'action des enzymes. Le principe fondamental du fonctionnement des enzymes, tel qu'HENRI l'envisage, est la formation d'un complexe enzyme-substrat, EA, en équilibre avec le substrat libre. Ce mécanisme implique une première étape de fixation du substrat sur l'enzyme et une seconde étape de conversion du substrat en produit, qui se déroule au sein du complexe enzyme-substrat (EA). La seconde étape se termine par la libération du produit. Si nous considérons le cas simple où $[P]_0 = 0$ et la vitesse initiale de la réaction est mesurée (§ 4.1.2), ce mécanisme est représenté par le schéma suivant :



où A et P représentent respectivement le substrat et le produit, E l'enzyme libre, EA le complexe enzyme-substrat, et où K_a est la constante de dissociation du complexe enzyme-substrat EA :

$$K_a = \frac{[E][A]}{[EA]} \quad [3.4]$$

Comme nous l'avons dit, HENRI suppose l'existence d'un équilibre rapide pour la formation du complexe EA à partir de l'enzyme libre et du substrat libre et c'est à partir de ce modèle qu'il a obtenu l'équation de vitesse présentée dans l'équation [3.1]. Il est utile de se rappeler qu'en enzymologie, la constante d'équilibre est généralement définie dans le sens de la dissociation du complexe, ce qui conduit à une constante d'équilibre K_a exprimée en unités apparentes de concentration. Dans le cas de réactions enzymatiques complexes, cette convention simplifie considérablement l'équation de vitesse par rapport à l'utilisation de constantes d'association.

La formulation mathématique d'un mécanisme enzymatique et l'écriture de l'équation de vitesse correspondante sont généralement des étapes difficiles à réaliser par les étudiants. A cette difficulté s'ajoute le fait que le problème peut être résolu de diverses manières et que souvent les ouvrages de référence se limitent au traitement détaillé des cas simples, ne présentant que l'équation finale de vitesse pour les mécanismes plus complexes. Nous présentons ici une méthode générale et simple pour l'écriture des équations de vitesse qui repose sur l'application successive de trois règles. Nous l'appliquerons d'abord au cas simple d'une réaction à un seul substrat dans des conditions irréversibles (équation [3.3]), mais nous appliquerons systématiquement cette méthode dans la suite de ce livre pour dériver les équations de vitesse de réactions plus complexes. Une autre méthode, mieux adaptée au traitement de systèmes complexes, sera présentée dans le chapitre 6.

► **La première règle** consiste à appliquer la loi d'action de masses pour définir la vitesse de formation du produit P :

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[EA] \quad [3.5]$$

La mesure de la concentration instantanée du complexe $[EA]$ est généralement difficile, souvent peu commode, et voire même impossible. En utilisant l'équation [3.4] qui peut s'écrire de la manière suivante :

$$[EA] = \frac{[E][A]}{K_a} \quad [3.6]$$

nous obtenons :

$$v = k_2 \frac{[E][A]}{K_a} \quad [3.7]$$

Puisque la concentration instantanée d'enzyme $[E]$ est aussi difficile à mesurer que celle du complexe EA, il serait préférable d'exprimer la vitesse en terme de

concentration initiale d'enzyme $[E]_0$ qui constitue généralement un paramètre contrôlable dans une expérience de cinétique enzymatique.

- **La deuxième règle** consiste à utiliser l'équation de conservation de l'enzyme pour exprimer l'équation [3.7] en fonction de la concentration initiale d'enzyme et non de concentration d'enzyme libre. Dans le mécanisme de l'équation [3.3], l'enzyme existe soit sous forme libre, soit sous forme complexée avec le substrat EA et nous pouvons donc écrire :

$$[E]_0 = [E] + [EA] \quad [3.8]$$

En combinant cette équation avec l'équation [3.6], nous obtenons :

$$[E]_0 = [E] + \frac{[E][A]}{K_a} = [E] \left(1 + \frac{[A]}{K_a}\right) \quad [3.9]$$

qui fournit une expression de la concentration d'enzyme libre à partir de la concentration initiale d'enzyme :

$$[E] = \frac{[E]_0}{D} \quad [3.10]$$

où $D = 1 + [A]/K_a$ représente le dénominateur de l'équation [3.10]. Une fois cette expression obtenue, nous pouvons l'introduire dans l'équation [3.7] :

$$v = k_2 \frac{([E]_0/D)[A]}{K_a} \quad [3.11]$$

A ce stade, la vitesse de la réaction n'est définie que si la concentration instantanée de substrat libre, $[A]$, peut être mesurée, ce qui nous amène à introduire la troisième règle.

- **La troisième règle** consiste à imposer une contrainte sur le système permettant de connaître la concentration instantanée de substrat libre à partir de la concentration initiale de substrat. En général, les enzymes sont étudiés dans des conditions où la concentration d'enzyme $[E]_0$ est beaucoup plus faible que la concentration de substrat $[A]_0$. Ainsi, l'équation de conservation du substrat s'écrit comme suit :

$$[A]_0 = [A] + [EA] \quad [3.12]$$

où nous pouvons négliger $[EA]$ vis-à-vis de $[A]$. En se plaçant dans des conditions de vitesse initiale, nous pouvons donc assimiler la concentration instantanée de substrat à la concentration initiale : $[A]_0 = [A]$. Cette situation est valable pour la majorité des études réalisées *in vitro*, mais il est important de noter qu'*in vivo* la situation où $[E]_0 \approx [A]$ est très courante. Dans ce cas, $[EA]$ ne peut plus être négligé dans l'équation [3.12], et l'équation de vitesse prend une forme plus complexe (voir ci-dessous).

En appliquant successivement ces trois règles, nous obtenons l'équation de vitesse suivante :

$$v = k_2 \frac{[E]_0}{D} \frac{[A]_0}{K_a} = k_2 [E]_0 \frac{[A]_0/K_a}{1 + ([A]_0/K_a)} \quad [3.13]$$

Le terme de droite de l'équation [3.13] est identique à l'équation de HENRI (équation [3.2]) pour une réaction enzymatique simple n'impliquant pas d'inhibition par le produit où les paramètres de HENRI sont assimilés à ceux de l'équation [3.13] : $k = k_2/K_a [E]_0$ et $m = 1/K_a$. En remplaçant ces termes dans l'équation [3.2], nous pouvons donc réécrire l'équation de HENRI de la manière suivante :

$$v = \frac{k_2 [E]_0 ([A]_0 / K_a)}{1 + ([A]_0 / K_a)} \quad [3.14]$$

Dans la majorité des ouvrages traitant de la cinétique enzymatique, l'équation [3.14] est obtenue plus simplement en extrayant une expression de $[EA]$ en fonction de la concentration initiale d'enzyme à partir l'équation de conservation de l'enzyme. Néanmoins le passage par l'écriture d'une expression de $[E]$, comme nous l'avons fait dans l'équation [3.10], permet une application plus générale puisque la forme libre de l'enzyme est toujours présente dans le mécanisme réactionnel quelle que soit la complexité de ce mécanisme. Ainsi, la méthode de dérivation de l'équation de vitesse présentée ici, peut sembler complexe mais comme nous le verrons dans les chapitres suivants, son utilisation simplifiera la procédure de dérivation pour des mécanismes enzymatiques plus complexes.

3.2.2. Le traitement de MICHAELIS et MENTEN

MICHAELIS et MENTEN s'intéressaient également à la réaction d'hydrolyse du saccharose catalysée par l'invertase. En contrôlant le pH de la solution à l'aide d'un tampon acétate, et en laissant évoluer la réaction de mutarotation du produit jusqu'à l'équilibre, MICHAELIS et MENTEN (1913) ont validé les résultats obtenus par HENRI. Ils ont réalisé leurs mesures dans des conditions de vitesse initiale évitant ainsi un certain nombre de complications comme le déroulement de la réaction inverse, l'inhibition par le produit ou la dénaturation progressive de l'enzyme. Sur la base de ces résultats, MICHAELIS et MENTEN ont proposé un mécanisme similaire à celui de HENRI et ont dérivé l'équation de vitesse correspondante.

$$v = \frac{k_2 [E]_0 [A]}{K_a + [A]} \quad [3.15]$$

où K_a est la constante de dissociation du complexe enzyme-substrat et k_2 la constante de vitesse pour la conversion du complexe enzyme-substrat en enzyme libre et en produit. La dérivation de cette équation de vitesse reposait sur les mêmes hypothèses que celles faites par HENRI, notamment que le premier équilibre entre l'enzyme et le substrat est établi rapidement et que la concentration de substrat est largement supérieure à la concentration d'enzyme. Bien que, dans sa thèse de doctorat, Victor HENRI évoque également l'utilité d'avoir recours à la mesure de vitesses initiales, MICHAELIS et MENTEN sont également à l'origine de l'utilisation systématique de ce type de mesure dans la cinétique enzymatique.

Dans leur publication, MICHAELIS et MENTEN reconnaissent l'importance des travaux de HENRI : *Les expériences de HENRI sont particulièrement importantes, parce qu'il est parvenu à une conception rationnelle de la nature de l'action enzymatique qui a permis une formulation mathématique de l'évolution de l'action d'un enzyme qui rend compte des observations sur de nombreux points.*

L'équation [3.15] dérivée par MICHAELIS et MENTEN est une simple variante de l'équation de vitesse [3.14] proposée par HENRI (1903) et peut être obtenue directement à partir de l'équation de HENRI en multipliant le numérateur et le dénominateur par K_a :

$$v = \frac{k_2 [E]_0 \frac{[A]}{K_a} K_a}{\left(1 + \frac{[A]}{K_a}\right) K_a} = \frac{k_2 [E]_0 [A]}{K_a + [A]} \quad [3.16]$$

L'équation [3.15] est parfois appelée l'équation de HENRI, MICHAELIS et MENTEN mais parce que les expériences de MICHAELIS et MENTEN ont été réalisées dans des conditions mieux définies et mieux contrôlées, ces chercheurs sont généralement reconnus comme les fondateurs de l'enzymologie moderne, et l'équation de vitesse d'une réaction enzymatique simple est généralement connue comme l'équation de MICHAELIS et MENTEN. En plus du côté historique, l'utilisation généralisée de la forme de MICHAELIS et MENTEN, tient dans la simplicité de son écriture et de son analyse. Comme nous le verrons dans le § 3.5, elle peut facilement être écrite sous différentes formes linéaires.

Maud MENTEN (1879-1960) ²

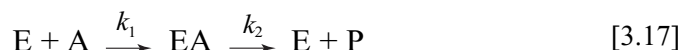
Maud MENTEN est née à Port Lambton dans l'Ontario et est devenue en 1911 la première femme canadienne à recevoir un doctorat en médecine. Son travail avec MICHAELIS sur l'invertase n'était qu'un intermède dans sa carrière essentiellement dévolue à la pathologie et aux aspects médicaux de la biochimie et de la physiologie. Elle a passé la majeure partie de sa carrière à l'Université de Pittsburgh, mais elle est retournée au Canada après sa retraite.

2. Pour la biographie de Leonor MICHAELIS, voir chapitre 8.

3.3. DESCRIPTION CINÉTIQUE DES RÉACTIONS ENZYMATIQUES DANS DES CONDITIONS D'ÉTAT STATIONNAIRE

3.3.1. Les premières utilisations de la notion d'état stationnaire

Au moment où MICHAELIS et MENTEN publiaient leurs résultats sur l'invertase, VAN SLYKE et CULLEN (1914) obtinrent des résultats similaires avec l'uréase et proposèrent un mécanisme identique, excepté qu'ils supposèrent une première étape irréversible :



Dans ce cas, la concentration du complexe, $[EA]$, ne peut être obtenue à partir de la constante d'équilibre mais peut être obtenue uniquement à partir de l'équation différentielle décrivant la variation de la concentration du complexe EA en fonction du temps :

$$\frac{d[EA]}{dt} = k_1([E]_0 - [EA])[A] - k_2[EA] \quad [3.18]$$

En faisant l'hypothèse que la concentration de l'intermédiaire est constante, c'est-à-dire que $d[EA]/dt = 0$, VAN SLYKE et CULLEN ont obtenu l'équation suivante :

$$k_1([E]_0 - [EA])[A] - k_2[EA] = 0 \quad [3.19]$$

qui peut être réarrangée pour donner :

$$[EA] = \frac{k_1[E]_0[A]}{k_1[A] + k_2} \quad [3.20]$$

En substituant l'équation [3.20] dans l'équation de vitesse $v = k_2[EA]$, ils ont finalement obtenu l'équation de vitesse suivante :

$$v = k_2[EA] = \frac{k_1 k_2 [E]_0 [A]}{k_2 + k_1 [A]} = \frac{k_2 [E]_0 [A]}{(k_2/k_1) + [A]} \quad [3.21]$$

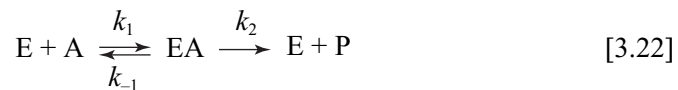
La seule différence entre cette équation et l'équation [3.15], réside dans le remplacement de K_a par le rapport k_2/k_1 (la constante K_a est égale au rapport k_{-1}/k_1), une situation qui est en pratique indiscernable.

A la même époque où ont lieu ces développements dans la compréhension de la cinétique enzymatique, LANGMUIR (1916, 1918) développe une formulation identique pour expliquer l'adsorption de gaz sur des solides. Son traitement est beaucoup plus général, mais le cas simple de l'adsorption d'une molécule sur une surface correspond exactement au type de fixation proposé par HENRI et par MICHAELIS et MENTEN. LANGMUIR reconnaît d'ailleurs la similarité entre les surfaces solides et les enzymes, mais il imagine que la surface entière de l'enzyme est « active », par opposition à la surface limitée qui correspond au site actif.

HITCHCOCK (1936) souligne également la similarité entre les équations pour la fixation de ligands sur des surfaces solides et sur des protéines. Cette comparaison est complétée par celle de LINEWEAVER et BURK (1934), qui étendent les idées de HITCHCOCK aux processus catalytiques.

3.3.2. Le traitement de BRIGGS et HALDANE

Comme nous l'avons vu, la formulation de HENRI et celle de MICHAELIS et MENTEN conduisent à une forme identique de l'équation de vitesse. Dans ces deux cas, le fait de traiter la première étape de la réaction enzymatique comme un équilibre impose des hypothèses injustifiées sur la détermination des constantes de vitesse. Il en va de même pour le mécanisme proposé par VAN SLYKE et CULLEN qui repose sur l'hypothèse de deux étapes irréversibles. BRIGGS et HALDANE (1925) ont proposé un mécanisme plus général qui se réduit au mécanisme de HENRI, MICHAELIS et MENTEN dans des cas particuliers. Le modèle utilisé par BRIGGS et HALDANE est le suivant :



où le premier équilibre est décrit par des constantes individuelles de vitesse pour les réactions directe et inverse. Dans ce cas, la variation de la concentration du complexe EA est donnée par la somme des vitesses de sa formation et de sa dissociation :

$$\frac{d[EA]}{dt} = k_1([E]_0 - [EA])[A] - k_{-1}[EA] - k_2[EA] \quad [3.23]$$

BRIGGS et HALDANE ont argumenté qu'un état stationnaire peut être atteint pour lequel la concentration de l'intermédiaire est constante, c'est-à-dire $d[EA]/dt = 0$.

Pour obtenir l'équation de vitesse, $v = d[P]/dt$, les trois règles décrites pour le cas d'équilibre peuvent être adaptées de la manière suivante.

- La vitesse nette de la réaction est obtenue en appliquant la loi d'action de masses à l'étape de conversion de EA en produit :

$$v = k_2[EA] \quad [3.24]$$

- L'équation de conservation de l'enzyme reste la même que l'équation [3.8] :

$$[E]_0 = [E] + [EA] \quad [3.25]$$

mais pour obtenir une expression de la concentration d'enzyme libre en fonction de la concentration initiale d'enzyme, BRIGGS et HALDANE appliquent au complexe EA le principe d'état stationnaire développé par BODENSTEIN :

$$\frac{d[EA]}{dt} = -\frac{d[EA]}{dt} = 0 \quad [3.26]$$

A partir de l'équation [3.23] qui exprime la variation de la concentration du complexe EA en fonction du temps, l'hypothèse d'un état stationnaire impose que :

$$\frac{d[EA]}{dt} = k_2[E][A] - (k_{-1} + k_2)[EA] = 0 \quad [3.27]$$

d'où nous obtenons : $k_1[E][A] = (k_{-1} + k_2)[EA]$ [3.28]

et $[EA] = \frac{k_1}{(k_{-1} + k_2)}[E][A]$ [3.29]

En introduisant l'équation [3.29] dans l'équation de conservation [3.25], on obtient l'équation suivante :

$$[E]_0 = [E] + \frac{k_1}{k_{-1} + k_2}[E][A] = [E] \left(1 + \frac{k_1}{k_{-1} + k_2}[A] \right) \quad [3.30]$$

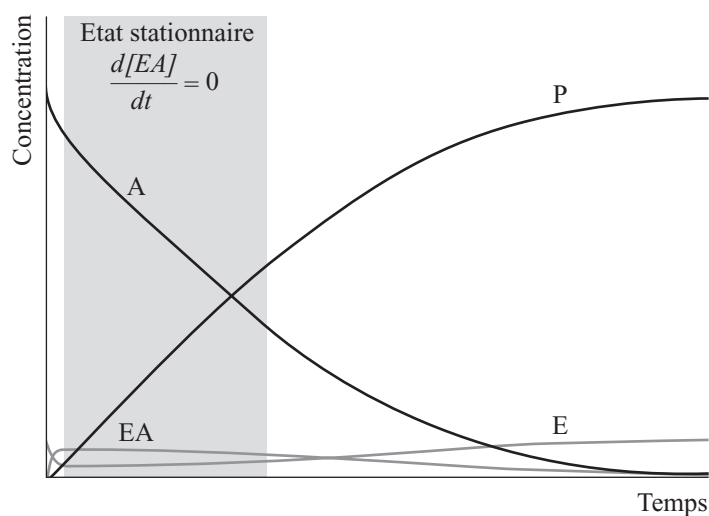
Cette équation relie la concentration d'enzyme libre à la concentration initiale d'enzyme et peut s'écrire sous une même forme que l'équation [3.10] :

$$[E] = \frac{[E]_0}{D} \quad [3.31]$$

bien que l'expression de D soit différente :

$$D = 1 + \frac{k_1}{k_{-1} + k_2}[A] \quad [3.32]$$

- Si l'hypothèse $[A]_0 \gg [E]_0$ est respectée, l'équation de conservation du substrat se simplifie comme précédemment et nous pouvons écrire $[A] \cong [A]_0$.



3.6 - Variations de $[A]$, $[EA]$, $[E]$ et $[P]$
pour une réaction enzymatique à l'état stationnaire

A partir de ces trois règles, nous pouvons écrire l'équation de vitesse :

$$v = k_2 \frac{k_1}{k_{-1} + k_2} \frac{[E]_0}{D} [A]_0 \quad [3.33]$$

Cette équation peut être simplifiée en multipliant le numérateur et le dénominateur par $(k_{-1} + k_2)/k_1$, ce qui permet d'obtenir l'équation suivante :

$$v = \frac{k_2 [E]_0 [A]_0}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [A]_0} \quad [3.34]$$

3.3.3. L'équation de MICHAELIS et MENTEN

Aujourd'hui, les noms de MICHAELIS et de MENTEN sont couramment associés à une forme générale de l'équation de vitesse qui utilise indifféremment l'hypothèse de l'état stationnaire ou l'hypothèse de l'équilibre. Cette forme générale de l'équation de vitesse, dénommée équation de MICHAELIS et MENTEN, est donnée par l'équation suivante :

$$v = \frac{k_0 [E]_0 [A]}{K_m + [A]} \quad [3.35]$$

dans laquelle la constante k_2 est remplacée par k_0 et le rapport $(k_{-1} + k_2)/k_1$ de l'équation [3.34] est remplacé par K_m , la *constante de MICHAELIS*. L'équation [3.35] est plus générale que l'équation [3.15] et s'applique à des mécanismes plus complexes que le mécanisme simple considéré par MICHAELIS et MENTEN. Dans de nombreux mécanismes complexes, l'équation [3.35] reste valable, mais la constante k_0 ne fait pas obligatoirement référence à la constante de vitesse d'une étape individuelle du mécanisme et la constante K_m ne reste pas obligatoirement équivalente à la constante de dissociation du complexe EA ou au rapport $(k_{-1} + k_2)/k_1$.

La constante k_0 conserve néanmoins les propriétés d'une constante de vitesse de premier ordre et définit la capacité du complexe enzyme-substrat à former le produit de la réaction. Pour cette raison, la constante k_2 de l'équation [3.34] peut être remplacée par k_0 . Elle est aussi connue comme la *constante catalytique* et est souvent symbolisée par k_{cat} plutôt que par k_0 . Alternativement, elle représente le nombre de *cycles catalytiques (turnover)*, faisant allusion au fait qu'elle correspond à l'inverse d'un temps et qu'elle définit le nombre de cycles que l'enzyme réalise par unité de temps.

Au début de l'étude des mécanismes enzymatiques, la véritable molarité de l'enzyme, c'est-à-dire $[E]_0$, était généralement inconnue, ce qui compliquait l'utilisation de l'équation de MICHAELIS et MENTEN dans la forme illustrée par l'équation [3.35]. Cette difficulté était généralement contournée en combinant k_0 et $[E]_0$ en une constante unique $V = k_0 [E]_0$, appelée la *vitesse limite* qui, du fait de sa dépendance à la concentration de l'enzyme, ne représente pas une propriété fondamentale de l'enzyme.

Ainsi, l'équation de MICHAELIS et MENTEN est couramment écrite comme suit :

$$v = \frac{V[A]}{K_m + [A]} \quad [3.36]$$

Afin d'éviter toute confusion avec la vitesse de la réaction, v , la vitesse limite V est habituellement dénommée la *vitesse maximum*, et est parfois écrite V_{max} ou V_m . Ces termes et symboles sont dérivés de la dénomination ancienne (et encore souvent utilisée, bien que son utilisation soit découragée par le Comité de Nomenclature IUBMB (IUB, 1982) parce qu'elle ne correspond pas à un maximum au sens mathématique du terme, mais à une limite). L'utilisation du symbole V_m est particulièrement déconseillée parce qu'il peut, de manière erronée, suggérer une correspondance avec l'indice m de la constante K_m . En réalité, l'indice m de la constante K_m est pour MICHAELIS, un hommage qui était plus clair avec l'ancien usage du terme K_M .

Dans certains cas, il est utile de normaliser la vitesse v par rapport à la vitesse limite V . L'équation de HENRI (équation [3.14]) s'écrit alors de la manière suivante :

$$\frac{v}{V} = \frac{[A]_0}{K_a} \left/ 1 + \frac{[A]_0}{K_a} \right. \quad [3.37]$$

et l'équation de MICHAELIS et MENTEN ((équations [3.15] et [3.35]) s'écrit :

$$\frac{v}{V} = \frac{[A]}{K_m + [A]} \quad [3.38]$$

3.3.4. Analyse de la courbe définie par l'équation de MICHAELIS et MENTEN

La courbe définie par l'équation [3.36] et présentée dans la figure 3.7 a la forme d'une hyperbole rectangulaire passant par l'origine et ayant les asymptotes suivantes : $[A] = -K_m$ et $v = V$. En fonction de la concentration de substrat, trois situations expérimentales peuvent être distinguées qui vont définir trois régions dans le graphique de v en fonction de $[A]$.

Situation où $[A] \ll K_m$

Pour de faibles valeurs de $[A]$, largement inférieures à K_m , le dénominateur du terme de droite des équations [3.35] et [3.36] est dominé par K_m ; en d'autres termes, $[A]$ est négligeable par rapport à K_m et la vitesse v est directement proportionnelle à $[A]$:

$$v = \frac{k_0}{K_m} [E]_0 [A] = \frac{V}{K_m} [A] \quad [3.39]$$

c'est-à-dire que la vitesse de la réaction est approximativement d'ordre global deux, mais d'ordre un par rapport au substrat. Il est instructif de réaliser que k_0/K_m ne représente pas uniquement le résultat de la division de k_0 par K_m mais que ce rapport correspond à la constante de vitesse de second ordre pour la réaction $E + A \longrightarrow E + P$ mesurée pour de faibles concentrations de substrat. Ce