



## Enzymologie, $K_m$ et concentration de l'enzyme

### Question

*En enzymo, pour quelle concentration d'enzyme est établi le  $K_m$  ? Est-ce que ça n'a pas d'influence ? (intuitivement, il me semble que si on a une enzyme pour 10 molécules de substrat, ou 500 enzymes pour le même nombre, ça ne fait pas la même chose...).*  
*merci d'avance*

### Réponse

$K_m$  est la concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale de la réaction est à la moitié de la vitesse initiale maximale. Cette constante est une concentration, et a pour unité la  $\text{mol.L}^{-1}$ . Cette constante caractérise donc une réaction enzymatique et par là l'enzyme elle-même :

- plus le  $K_m$  est **élevé**, plus la concentration de substrat nécessaire à une activité importante de l'enzyme est élevée. Ce qui traduit en général une faible affinité de l'enzyme pour son substrat.
  - ⇒ C'est le cas des enzymes dont les substrats sont en concentration élevée dans leur environnement, ou qui ont un spectre de substrat large.
- plus le  $K_m$  est **petit**, plus l'activité enzymatique maximale est atteinte pour un faible niveau de concentration de substrat. L'affinité de l'enzyme pour le substrat est forte.
  - ⇒ En général, c'est le cas des enzymes sélectives et/ou très actives.

Les enzymes dites « michaeliennes » fonctionnent selon le mode suivant : un substrat S se lie avec une enzyme E pour donner un intermédiaire ES, puis cet intermédiaire se dissocie pour donner un produit P avec régénération de l'enzyme E. Précision importante : chaque site actif se comporte indépendamment des autres, qu'ils soient physiquement séparés (un site actif par molécule) ou non (plusieurs sites actifs par molécule).

L'équation de Michaelis-Menten (expression mathématique décrivant les paramètres cinétiques d'une réaction chimique catalysée par une enzyme michaelienne) cherche à établir une expression de la vitesse de réaction initiale  $V_0$  en fonction de grandeurs connues (fixées par l'expérimentateur ou mesurées).

Pour cela il faut se placer dans des conditions expérimentales particulières, à savoir :

- une concentration en substrat [S] très largement supérieure à la concentration totale en enzyme  $[E]_T$  ;
- l'absence ou quasi-absence de produit P.

La première condition est obtenue en choisissant *des quantités adaptées d'enzyme et de substrat* à introduire dans le milieu réactionnel, la seconde en réalisant les mesures suffisamment rapidement pour que la quantité de substrat transformé en produit soit faible.

⇒ votre intuition n'était donc pas vaine !