

TD complémentaire : Influence des concentrations sur la vitesse d'une réaction enzymatique

Document 1 : (Hachette, Ed.2019,p.92)

Des résultats expérimentaux

a. La concentration en substrat

La catalase est une enzyme présente chez tous les organismes **aérobies** chez lesquels elle participe à la défense contre les dérivés toxiques de l'oxygène. Elle catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en dioxygène selon l'équation bilan :



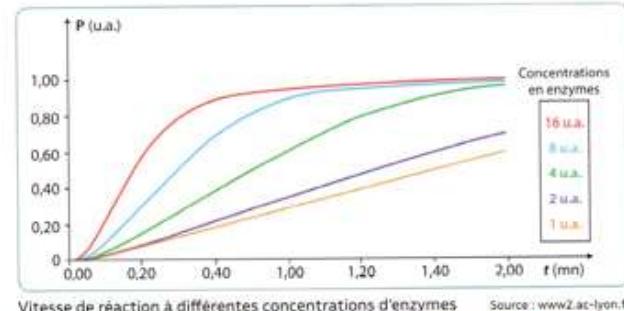
Il est possible de suivre cette réaction en mesurant la concentration en O_2 libéré dans le milieu en réalisant une expérience assistée par ordinateur avec un dispositif ExAO (méthode de réalisation et d'exploitation de mesures utilisant l'ordinateur).



Une manipulation utilisant le dispositif ExAO

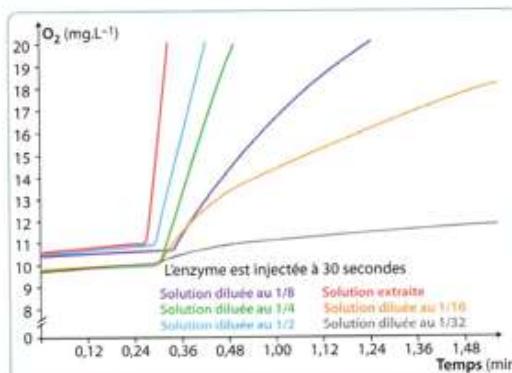
b. La concentration en enzyme

La seconde manipulation consiste à utiliser le même protocole mais, cette fois, en diminuant la concentration en enzyme pour la même teneur en substrat (la dilution peut être réalisée avec de l'eau distillée). Le graphique ci-contre présente des exemples de courbes pouvant être obtenues. Le TP est à réaliser avec des concentrations plus précises.



Protocole

- Solutions utilisées : extrait de navet (catalase) mélangé à du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) à différentes concentrations.
- Préparation de la solution d'enzyme : broyer un navet épluché dans 150 ml de tampon saccharose-phosphate pH 6,5. Filtrer puis collecter ce mélange dans un erlenmeyer placé dans de la glace.
- Remplir la cuve de peroxyde d'oxygène, déclencher l'enregistrement afin de mesurer la concentration en dioxygène après étalementage de l'électrode. Après 30 secondes, ajouter 0,5 ml de solution dans la cuve. Répéter la manipulation en diluant le substrat.



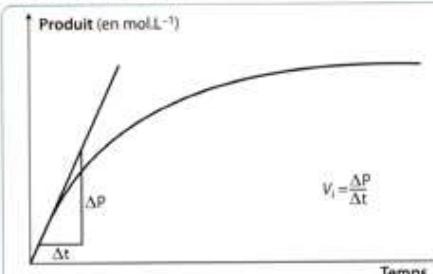
Des données historiques

En 1913, le biochimiste allemand Leonor Michaelis et la médecin canadienne Maud Menten émettent une hypothèse fondamentale sur le mode d'action de l'enzyme alors que la structure des protéines n'est pas encore connue. Ils pensent que l'enzyme E et le substrat S commencent par se lier (pour former un **complexe enzyme-substrat ES**). C'est ce complexe qui donnerait ensuite le produit P et qui libérerait l'enzyme pour une nouvelle réaction. Ce phénomène peut être symbolisé

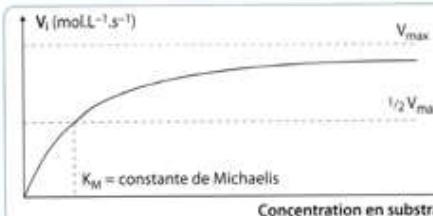
de la manière suivante : $\text{S} + \text{E} \rightleftharpoons \text{SE} \rightarrow \text{P} + \text{E}$. Ils modélisent leur hypothèse sous forme mathématique en mettant en relation la **vitesse de réaction** avec les concentrations en enzyme et en substrat, considérant que la probabilité de rencontre entre enzyme et substrat sera d'autant plus grande que le rapport $[\text{E}] / [\text{S}]$ est grand. La vitesse de la réaction enzymatique doit donc dépendre de ces concentrations.

HISTOIRE
DES SCIENCES

La transformation d'un **substrat** en un **produit** par une enzyme peut être mesurée au cours du temps. La représentation graphique de cette transformation prend généralement la forme d'une hyperbole (pour la quantité de substrat transformé S comme pour celle de produit P). Elle permet de voir que la réaction ralentit avec le temps et d'évaluer la **vitesse initiale**, utile pour comparer des enzymes.

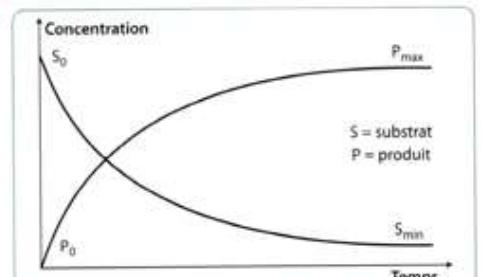


b. Détermination graphique de la vitesse initiale



c. Vitesse initiale de la réaction enzymatique en fonction de la concentration en substrat

Source : planet-vie.ens.fr



Évolution de la concentration de substrat et de produit en fonction du temps

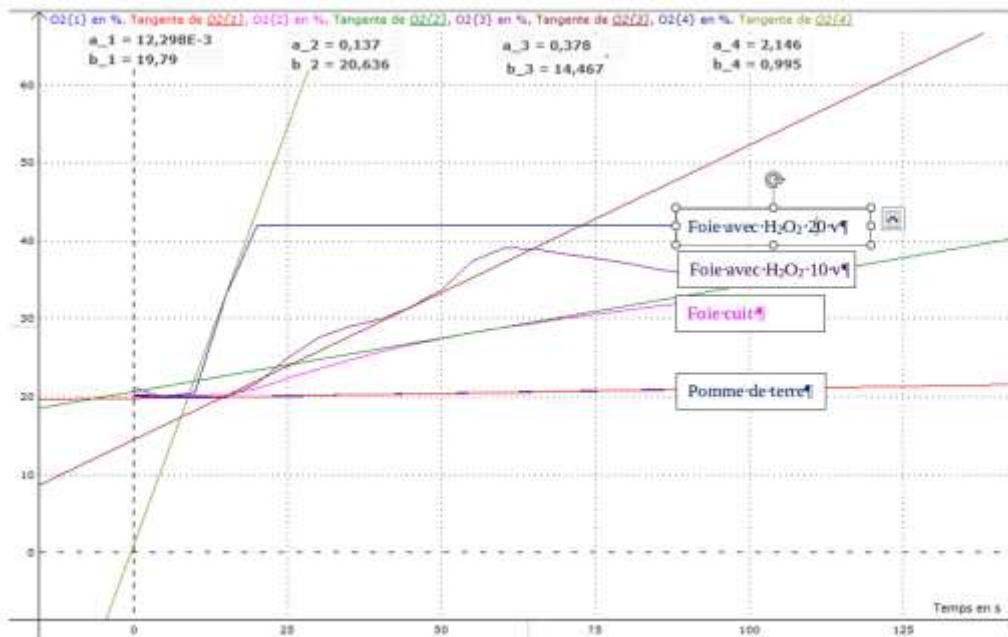
La vitesse initiale V_0 de la réaction est déterminée par la concentration de substrat et d'enzyme. La tangente permet de calculer V_0 . Elle va donc être appréciée en concentration ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) de produit « apparu » ou de substrat « disparu » en $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ en fonction du temps.

Lorsque toutes les molécules d'enzymes sont « occupées » par leur substrat, la vitesse de réaction ne peut plus augmenter et atteint un maximum (V_{max}). La vitesse initiale dépend d'un paramètre K_M (constante de Michaelis), paramètre notamment lié à la dissociation du complexe ES et propre à chaque enzyme. K_M correspond à la valeur de la concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale de la réaction enzymatique est égale à la moitié de la vitesse initiale maximale.

Document 3 :

Résultats attendus du TP

Vitesse et structure : deux clés du fonctionnement enzymatique



Résultats obtenus avec le Logiciel Latis Bio (euro Smart)

Mesures du dégagement de di oxygène en présence de H₂O₂ à 10 volume sur une pomme de terre, **du foie cuit** et **du foie cru** et en présence de H₂O₂ à 20 volume sur du foie cru.

Compétence	Niveaux
Identifier la réaction enzymatique et les paramètres mesurés	NA – PA – A – TBA
Extraire et comparer des données expérimentales	NA – PA – A – TBA
Interpréter les résultats en lien avec le modèle enzyme–substrat	NA – PA – A – TBA
Rédiger avec précision et vocabulaire scientifique	NA – PA – A – TBA

NA = Non acquis ; PA = Partiellement acquis ; A = Acquis ; TBA = Très bien acquis

1. Comprendre la réaction catalysée :

- À l'aide du document 1, rappeler l'équation de la réaction catalysée par la catalase.
- Quel paramètre mesuré expérimentalement permet de suivre l'avancement de la réaction ? Pourquoi ?

2. Analyse des résultats du TP (document 3)

Les pentes **a₁** à **a₄** correspondent à des vitesses initiales **V₀** mesurées dans différentes conditions.

- Parmi les quatre conditions expérimentales, laquelle montre **la vitesse initiale la plus élevée** ? (Justifier en utilisant les valeurs des pentes).
- Expliquer pourquoi la condition « foie cuit » présente une vitesse très faible.
- Les conditions 1, 3 et 4 correspondent à des catalases actives mais à des **concentrations différentes en enzyme ou substrat**. Classer les vitesses initiales du plus petit au plus grand. En déduire l'effet d'une **augmentation de la concentration en enzyme** sur la vitesse initiale.

3. Influence de la concentration en substrat (documents 1 et 2)

- En utilisant les courbes du document 1 (dilutions de substrat), indiquer comment évolue la vitesse initiale lorsque la concentration en substrat augmente.
- À partir du document 2, expliquer pourquoi la vitesse ne peut pas augmenter indéfiniment lorsque la concentration en substrat augmente.
- Placer approximativement, parmi les résultats du TP (document 3), la ou les conditions qui pourraient correspondre à :
 - un **substrat limitant**,
 - un **substrat saturant**.Justifier.

4. Bilan : le modèle enzyme–substrat

- Représenter schématiquement le complexe enzyme-substrat (doc. 2).
- Expliquer le rôle du complexe ES dans la vitesse initiale V₀.
- Pourquoi la vitesse maximale V_{max} est-elle atteinte lorsque toutes les molécules d'enzyme sont occupées ?