

DOSAGE D'ENZYME OU

DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION D'ACTIVITÉ CATALYTIQUE

1. Intérêt pour le diagnostic biologique

La présence d'enzymes dans le sérum est le signe d'une **cytolyse** (ex : hépatocytes, cellules myocardiques, cellules pancréatiques) donc leur recherche explore indirectement ces organes.

2. Définitions

2.1. Activité catalytique (z)

L'activité catalytique représente la quantité de substrat transformé par unité de temps dans le milieu réactionnel. On l'exprime en U ou katal. Elle est proportionnelle à la quantité d'enzyme dans le milieu réactionnel.

• 1 U représente la transformation d'1 μmol de substrat S par minute (unité : U)

ou

• 1 katal représente la transformation d'1 mol de substrat S par seconde (unité : katal).

$$z = v_i \times V_{MR} \quad \text{avec} \quad v_i = \frac{\Delta[P]}{\Delta t} = -\frac{\Delta[S]}{\Delta t} \quad \text{dans les conditions initiales}$$

$$\text{D'après la loi de Beer-Lambert : } \Delta A = \varepsilon \cdot \ell \cdot \Delta[P] \quad \text{et} \quad \frac{\Delta A}{\Delta t} = \varepsilon \cdot \ell \cdot \frac{\Delta[P]}{\Delta t}$$

$$\text{D'où } v_i = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon \cdot \ell}$$

2.2. Concentration d'activité catalytique (b)

La concentration d'activité catalytique (b) est la quantité de substrat transformé par unité de temps et par litre de solution d'enzyme.

$$b = \frac{z}{V_{enzyme}} = \frac{z}{V_{sérum}}$$

$$b = \frac{\Delta A}{\Delta t} \times \frac{1}{\varepsilon \cdot \ell} \times \frac{V_{MR}}{V_{enzyme}} \times 10^{6*}$$

* 10^6 si ℓ en cm, ε en $\text{L} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$

* 10^3 si ℓ en m, ε en $\text{m}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$

3. Conditions opératoires de dosage

C'est une détermination d'une vitesse initiale dans les conditions telles que la vitesse de la réaction est d'ordre 1 par rapport à la concentration en enzyme.

3.1. Conditions de concentration en substrat pour avoir une vitesse de réaction d'ordre 1 par rapport à la concentration d'enzyme.

Il faut avoir une vitesse de réaction d'ordre 0 par rapport au substrat et d'ordre 1 par rapport à l'enzyme.

$[S]_0 > 10 \cdot K_M$ L'enzyme est saturée.

alors dans $v_i = v_{\max} \cdot [S]_0 / (K_M + [S]_0)$ on a $v_i = v_{\max} \cdot 10 K_M / (K_M + 10 K_M)$ donc $v_i = v_{\max} \cdot 10 K_M / (11 K_M)$, soit

$v_i = 10 / 11 \cdot v_{\max}$ ce qui signifie que v_i est presque égale à v_{\max}

La vitesse initiale est d'ordre 0 par rapport au substrat. La concentration initiale en substrat n'est pas limitante.

$v_i = k \cdot v_{\max}$ et v_{\max} est proportionnelle à la quantité d'enzyme. La quantité d'enzyme est limitante.

3.2. Les autres conditions expérimentales

C'est une méthode cinétique donc il n'y a jamais besoin d'un blanc réactif, ni de gamme.

Le pH est fixé par un tampon pour ne pas influencer la vitesse initiale.

La température est fixée de manière précise et constante.

La force ionique est fixée par un tampon.

Si la méthode est optimisée, elle contient des effecteurs qui augmentent la sensibilité analytique de la méthode.