

Le centenaire de l'équation de Michaelis et Menten

Cette année est célébré le centenaire de l'un des articles les plus cités en biochimie, celui de Leonor Michaelis et Maud Menten dans le *Biochemische Zeitschrift* en 1913 [1], dans lequel ils étudient la cinétique de l'enzyme invertase qui catalyse l'hydrolyse du saccharose. Ils expriment la variation de vitesse en fonction du substrat par l'équation suivante :

$$v = C \frac{\Phi[S]}{[S] + k}$$

où Φ est la concentration totale molaire de l'invertase, $[S]$ est la concentration en saccharose, k est la constante de dissociation du complexe enzyme-substrat, et C un facteur de proportionnalité. Notez qu'à cette époque la convention qui stipule que les constantes thermodynamiques doivent s'écrire en majuscule et les constantes cinétiques en minuscule n'existait pas.

Leur équation est maintenant presque toujours appelée l'équation de Michaelis et Menten ; cependant l'on peut se demander pourquoi elle s'appelle ainsi et non pas équation de Henri, en l'honneur de Victor Henri, grand scientifique français né à Marseille, qui étudia la cinétique enzymatique une décennie plus tôt et qui obtint une équation équivalente [2]. Comme pour beaucoup de problèmes de primauté, la réalité est compliquée. Henri avait écrit une équation pour une réaction inhibée par son produit :

$$\frac{dx}{dt} = K3 \frac{a - x}{1 + m(a - x) + nx}$$

où a est la concentration initiale en substrat, x est la concentration en produit, et $K3$, m et n sont des paramètres. On peut l'écrire avec des symboles plus modernes :

$$v = \frac{V.a}{1 + p/Ki + a}$$

où v est la vitesse de réaction à des concentrations instantanées a en substrat et p en produit, et V , K_m et K_i sont des paramètres (notez que a n'a pas exactement la même signification dans les deux équations). Henri a remarqué qu'au début de la réaction, quand il n'y a pas de produit, on a

$$vi = K3 \frac{a}{1 + m.a}$$

(v_i étant la vitesse initiale), ce qui est équivalent à la première équation et qu'on peut reconnaître comme « l'équation de Michaelis et Menten » :

$$v = \frac{V.a}{K_m + a}$$

Donc pourquoi pas « l'équation de Henri » ? Ceci est peut-être dû au fait que Henri, comme tous les chercheurs avant Michaelis et Menten, ne s'intéressait pas vraiment à la vitesse initiale mais à l'évolution de la réaction en fonction du temps (la version intégrée de l'équation 2). Il n'a donné aucune importance à l'équation 4.

Michaelis et Menten, par contre, ont reconnu l'importance des conditions de vitesse initiale, comme nous le discutons plus bas, ce qui a constitué un progrès majeur sur le plan expérimental. Cela a complètement bouleversé les méthodes d'étude des enzymes et reste la base de la plupart des expériences effectuées aujourd'hui. Michaelis et Menten furent les premiers à comprendre pourquoi leurs prédécesseurs avaient eu tellement de difficulté à analyser les réactions catalytiques. Non seulement Henri mais également tous les autres avaient essayé de suivre l'évolution de la réaction : cette approche était bien adaptée pour les réactions chimiques qui procèdent en une seule étape, et tout le monde travaillait comme cela au 19^{ème} siècle. Cependant, une réaction catalytique comporte au moins deux étapes ; pour une telle réaction, des complications s'accumulent pendant la réaction : inhibition par les produits, changements progressifs du pH et d'autres conditions, perte d'activité de l'enzyme et, dans le cas de l'invertase, mutarotation du glucose.

Le génie de Michaelis et Menten fut de voir que toutes ces complications sont éliminées si, au lieu d'essayer d'analyser l'évolution de la réaction, on étudie simplement la vitesse initiale. Cent ans plus tard [3], cette approche est devenue pratiquement universelle pour l'étude de l'état stationnaire malgré la disponibilité de méthodes plus performantes pour utiliser les équations intégrées ; la raison est identique: elle est beaucoup plus simple. De plus, Michaelis et Menten ont réalisé leurs expériences avec tellement de précision et de soin que lorsque Ken Johnson et Roger Goody les ont répétées récemment, ils ont obtenu exactement les mêmes résultats [4]. Henri arriva à la bonne interprétation du mécanisme de l'invertase, c'est-à-dire qu'il y a (au moins) deux étapes dans la réaction, fixation du substrat sur l'enzyme suivie par la réaction catalytique. Cependant il a fait deux erreurs significatives dans son analyse et l'objectif principal de Michaelis et Menten n'était pas de revendiquer la primauté d'une équation mais de montrer que l'on pouvait arriver à la même interprétation sur la base d'un raisonnement mieux fondé. En effet Henri, comme tout le monde à l'époque, avait utilisé une méthode polarimétrique pour suivre la réaction mais il n'avait pas pris en compte la conversion spontanée du α -D-glucose produit par la réaction enzymatique en un mélange à l'équilibre entre α -D-glucose et β -D-glucose. L'autre omission est qu'il n'avait fait aucun contrôle du pH. Bien sûr, l'échelle de pH n'existait pas en 1903, mais le concept d'« acidité » existait ; d'autres chercheurs avant Michaelis et Menten, comme les Britanniques Cornelius O'Sullivan et Frederick Tompson, l'avaient contrôlé correctement. En effet, Michaelis fut l'un des premiers chercheurs à reconnaître l'importance du pH, à l'étudier et à utiliser des tampons appropriés dans tous ses travaux. Son livre *Die Wasserstoffionenkonzentration* resta l'œuvre principale sur le sujet pendant de nombreuses années.

Histoire et sciences

Néanmoins, on peut dire que Henri mérite davantage de crédit qu'il n'en a reçu. Il est trop tard pour ajouter son nom à l'équation 5, même si une petite minorité de biochimistes ont essayé de le proposer, mais il serait juste de baptiser l'équation 3 « équation de Henri », comme, par exemple, Jean-Pierre Mazat l'a suggéré [5]. Il est probable cependant que Henri lui-même n'aurait pas été déçu par ce manque de crédit, parce qu'il fut un véritable esprit universel qui s'intéressait à beaucoup d'autres sujets outre la catalyse enzymatique : il a travaillé avec Alfred Binet (reconnu pour l'évaluation de l'intelligence humaine) sur la fatigue intellectuelle et a étudié plusieurs aspects de la physicochimie ; au total, il a publié plus de 500 articles.



Leonor Michaelis, lui aussi, a énormément publié — presque 500 publications au total, dont 95 pendant les cinq années précédant la première guerre mondiale, y compris cinq livres. Néanmoins il s'était beaucoup plus concentré sur les réactions enzymatiques que Henri. Dans le contexte de l'invertase il développa l'étude des inhibiteurs, élaborer les méthodes pour

mesurer et contrôler le pH, et établit l'importance du pH dans les réactions enzymatiques. Pendant les années 1920, il quitta l'Allemagne en raison d'un conflit scientifique avec Emil Abderhalden (avec qui il avait collaboré en 1907), l'un des biochimistes les plus influents de l'époque. Il passa trois ans comme Professeur de Biochimie à Nagoya, où il a beaucoup contribué au développement de la biochimie au Japon. En 1926 il s'installa aux États-Unis, à l'université Johns-Hopkins puis à l'Institut Rockefeller. Pendant ses années au Japon, il fit la connaissance de Shinichi Suzuki, qu'il encouragea à devenir professeur de violon : il a donc catalysé la création de la méthode Suzuki, aujourd'hui l'une des méthodes les plus répandues pour l'apprentissage du violon.



Maud Menten, née au Canada, est moins connue par les biochimistes actuels, principalement parce qu'après son séjour à Berlin elle ne se consacra pas à l'enzymologie mais elle s'intéressa à la pathologie et à l'histologie et fit sa carrière à l'université de Pittsburgh. Elle découvrit les effets hypoglycémiques des toxines de *Salmonella* ; plus tard, elle développa

une méthode pour détecter la phosphatase alcaline dans les reins et la même année, elle utilisa la sédimentation et l'électrophorèse pour étudier les hémoglobines humaines — un travail beaucoup moins connu que celui de Linus Pauling plus tard, qui reposait sur le même principe.

Si la seule contribution de Michaelis et Menten à la cinétique enzymatique avait été l'étude d'une étape dans la réaction catalysée par l'invertase — une enzyme que presque personne n'étudie aujourd'hui — ils auraient été oubliés cent ans plus

tard. On peut dire que Michaelis et Menten n'ont pas seulement défini un protocole pour étudier une enzyme, mais ils ont établi la norme de précision pour toutes les expériences ultérieures. C'est aussi pour cela que l'on doit se souvenir d'eux aujourd'hui, pas uniquement pour l'équation qui porte leur nom.

[1] Michaelis L und Menten M L (1913) Kinetik der Invertinwirkung, *Biochem. Z.* **49**, 333–369.

[2] Henri V (1903) Lois générales de l'action des diastases, Hermann, Paris.

[3] Cornish-Bowden A (2012) Fundamentals of Enzyme Kinetics, Wiley-Blackwell, Weinheim, Allemagne, 4ème édition.

[4] Johnson KA et Goody R S (2011) The original Michaelis constant : translation of the 1913 Michaelis–Menten paper, *Biochemistry* **50**, 8264–8269.

[5] Mazat J P (2013) Before Michaelis and Menten : Victor Henri's equation, *FEBS J.* sous presse

Nous remercions Mme. Kimie Yagi (veuve du Professeur Kunio Yagi) pour la permission d'utiliser l'image de Leonor Michaelis au Japon. Nous remercions M. John R. Barberie (son petit neveu) pour la permission d'utiliser l'image de Maud Leonora Menten lorsqu'elle était jeune étudiante.

María Luz Cárdenas et Athel Cornish-Bowden
(Unité de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines, Marseille)

Pour être (ou rester) dans la liste de diffusion, nous vous serions gré de transmettre au secrétariat de la SFBBM vos modifications d'adresse électronique dès lors que vous ne recevez plus de messages

Courriel du secrétariat : sfbbm@sfbbm.fr

Site web : <http://www.sfbbm.fr>