

A.U. : 2020-2021

Devoir de Synthèse de Biochimie B62

(Date: 02/06/2021, durée 1h30 min)

Nom : ----- Prénom : ----- CIN : -----

La qualité de la rédaction, la clarté et la précision des raisonnements entreront pour une part importante dans l'appréciation des copies (6 pages).

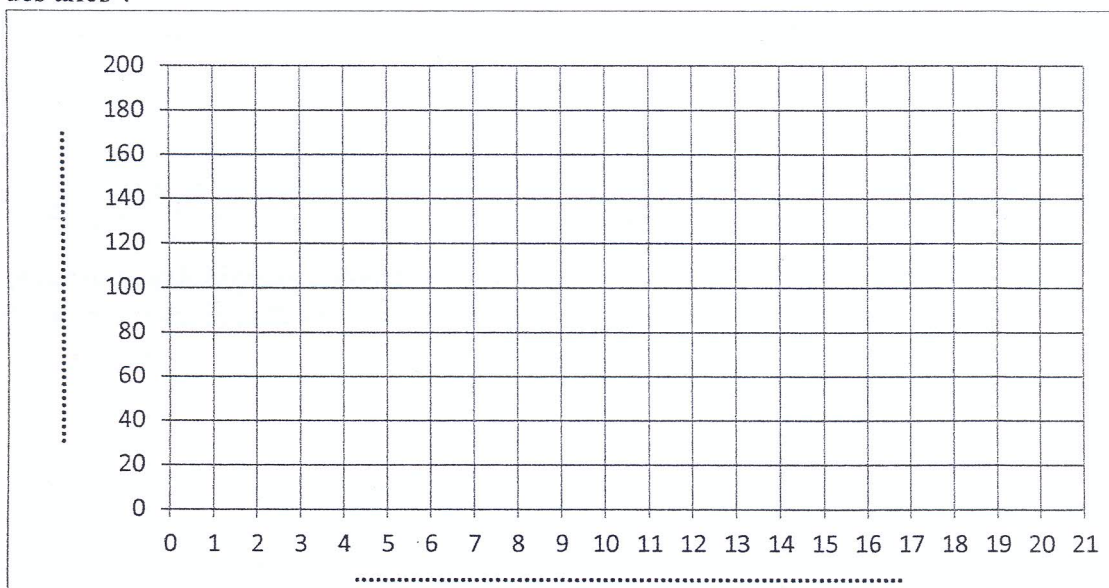
X-----

Exercice 1

On veut déterminer la vitesse initiale d'une réaction enzymatique. On réalise sur une préparation pure en enzyme la mesure **l'apparition du produit en fonction du temps** pour une concentration en substrat de 0.1 mol/L dont voici les résultats

Temps en minute (min)	0	1	2	3	5	10	20
Quantité de produit apparu en μmoles	0	30	60	90	115	170	180

1/ Tracer sur la figure ci-dessous le graphique de la quantité de produit en fonction du temps en complétant la légende des axes ?



2/ Déterminer la vitesse initiale de la réaction enzymatique

NE RIEN ECRIRE ICI

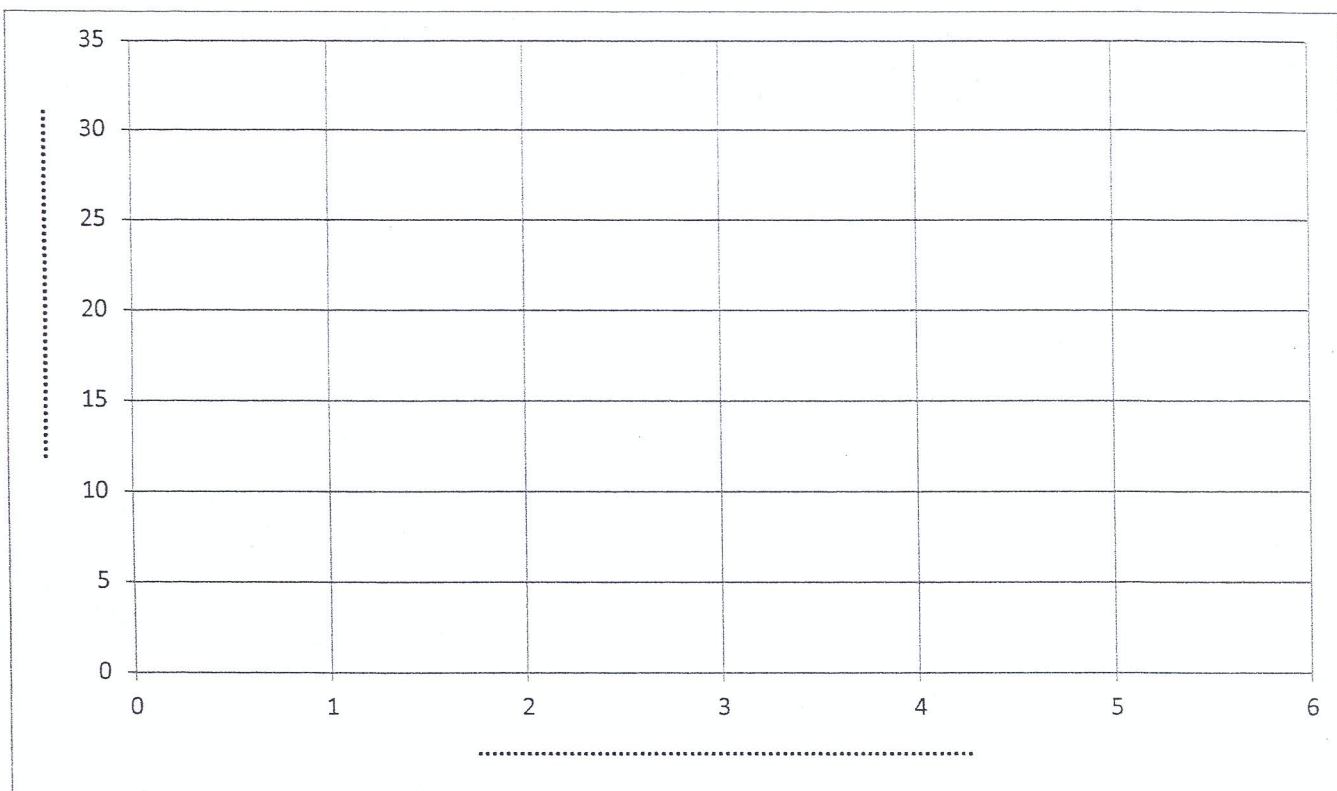
Exercice 2

On étudie l'hydrolyse du saccharose par une enzyme qui est l'invertase en mesurant la vitesse initiale de l'apparition du glucose pour différentes concentrations de substrat en utilisant 0,100 ml d'une solution enzymatique de concentration **15 µg/ml**. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau suivant :

(S) en mmol/L	1	2	3	4	5
Vi en µmol/L/min	20	27,7	30	32	33,3

1/ Ecrire la réaction d'hydrolyse du saccharose par l'inverse en respectant les structures chimiques des oses ?

2/ Tracer sur la figure ci-dessous la courbe de Vi en fonction de la concentration en substrat en complétant la légende des axes ?



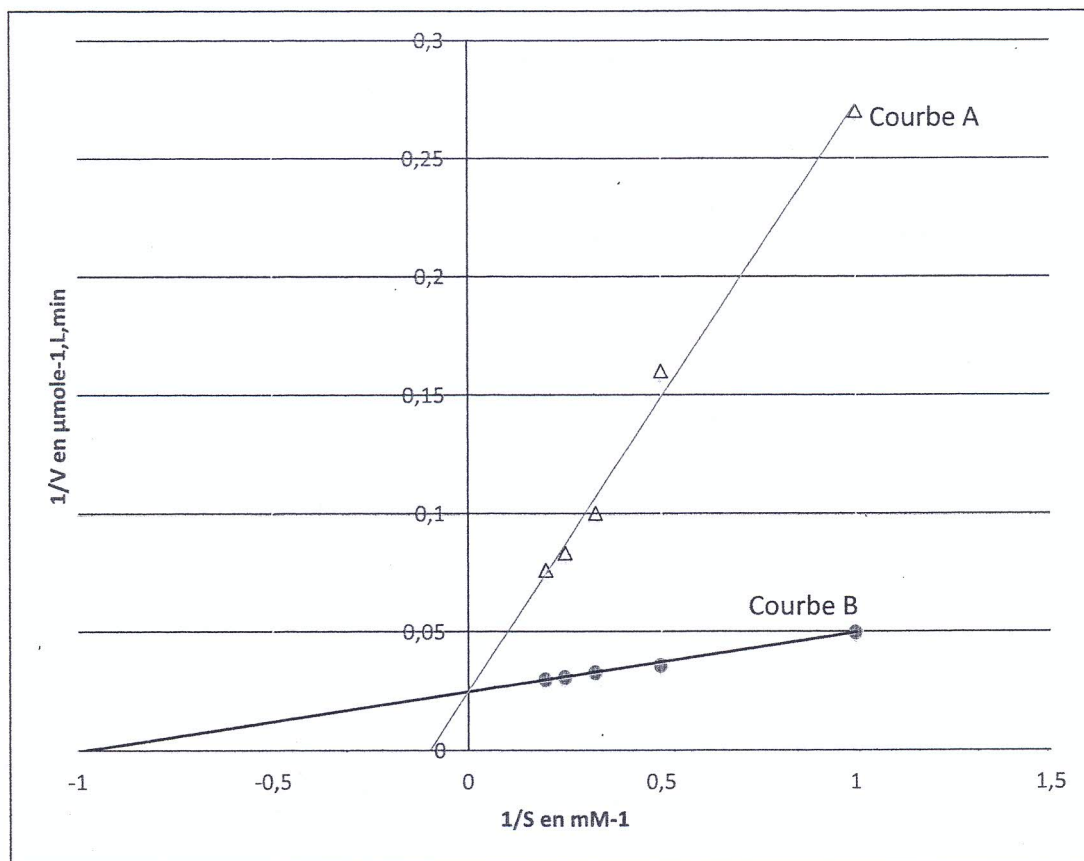
2/ peut-on apprécier directement les valeurs de K_m et V_{max} à partir de cette courbe ?

3/ La méthode des doubles inverses donne une droite de régression avec une équation $Y = 0,025X + 0,0246$. Déterminer K_m et V_{max} de cette enzyme ?

4/ Calculer l'activité spécifique de l'enzyme en UI/mg et en Kat/mg sachant que le volume réactionnel est de 1 ml ?

5/ Calculer son activité moléculaire spécifique (Turnover de la réaction) sachant que sa masse molaire est de 250 000 Daltons en précisant les unités.

6/ L'activité enzymatique a été étudiée en présence d'un inhibiteur X à une concentration de 1mM. La représentation graphique $1/V$ en fonction de $1/S$ en présence et absence de l'inhibiteur est ci-dessous



a) Quelle est la courbe en présence de l'inhibiteur (A ou B ?)

b) Quel est le type d'inhibition en justifiant votre réponse ?

- c) Déterminer la constante d'inhibition K_i sachant que la méthode des doubles inverses donne un droite de regression $Y = 0,248 X + 0,0246$ en présence de l'inhibiteur?

Exercice 3

Les phosphatases acides du tubercule de taro *Xanthosoma sp* ont été purifiées par un protocole comprenant deux grandes étapes.

Compléter le tableau ci-dessous

Etape	Volume	Activité totale (UI)	Protéine en mg	Activité Spécifique en UI/mg	Facteur de purification	Rendement en %
Extrait enzymatique brut	15	11,76	20,31		1	100
Chromatographie échangeuse d'ions	13	10,42	4,13			
Chromatographie d'exclusion	10	3,54	0,12			

- Taux de purification d'une enzyme est le rapport de AS mesurée après une étape de purification sur AS mesurée de l'étape précédente
- Rendement, exprimé en pourcentage, correspond à l'activité totale mesuré après une étape de purification sur l'activité totale mesuré à l'étape précédente.

Bon travail