

A.U. :2024/2025
Devoir de Synthèse de Biochimie N°2
BG2

Exercice 1 :

Une réaction enzymatique est réalisée en présence de phospholipase pancréatique (PLA2) à une concentration de 3 mg/mL de protéine. Le substrat est un phospholipide présent en concentration saturante. L'évolution de la réaction est suivie par spectrophotométrie : l'absorbance (DO) mesurée à une longueur d'onde spécifique est de 0,400 après 5 minutes. Le coefficient d'extinction molaire (ϵ) de l'acide gras libéré à cette longueur d'onde est de 4000 L·mol⁻¹·cm⁻¹. La largeur de la cuve est de 1 cm, et le volume réactionnel est de 3,0 mL.

Question 1 :

- Donnez la structure chimique du substrat.
- Indiquez le site d'action spécifique de la phospholipase pancréatique (PLA2). Quelles sont les molécule libérées?
- L'acide gras libéré est insaturé à 18 carbones. Après traitement au permanganate de potassium (KMnO₄), on obtient deux diacides et un monacide. Identifiez cet acide gras en justifiant votre réponse.

Question 2 :

Définissez clairement les termes suivants, en lien avec la cinétique enzymatique de Michaelis-Menten :

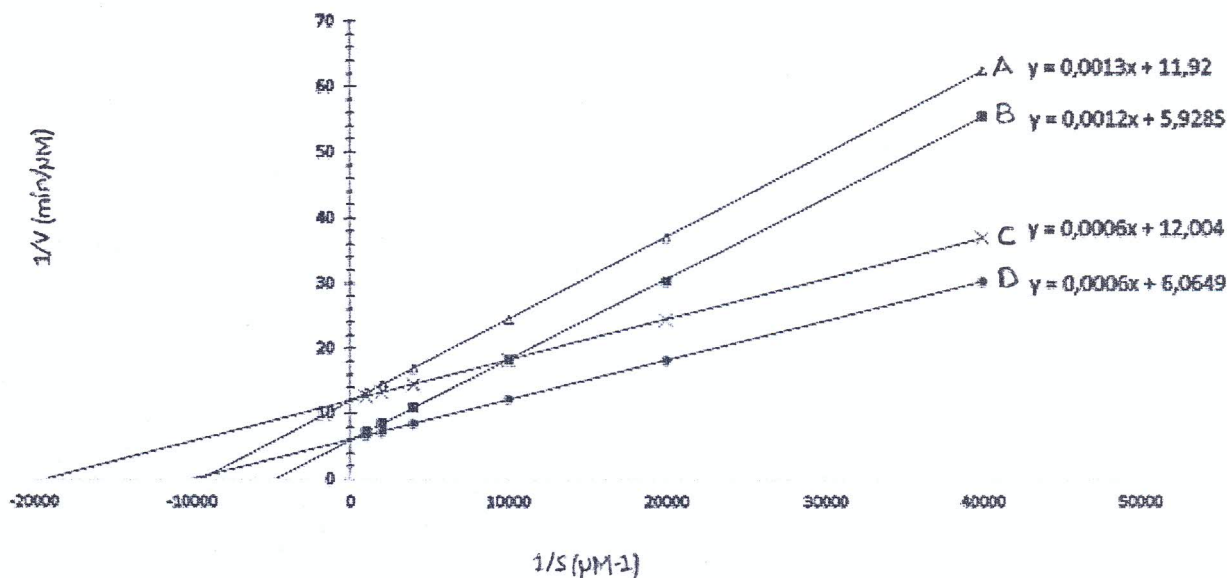
- Vitesse initiale (V_0)
- Constante de Michaelis (K_M)
- Constante catalytique (k_{cat})

Question 3 :

- Calculez la quantité de produit (en moles) formée après 5 minutes de réaction.
- Calculez l'activité enzymatique (en $\mu\text{mol}/\text{min}$).
- Calculez l'activité spécifique (en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine).
- Calculez le nombre de turnover (k_{cat}) exprimé en min⁻¹ (la masse moléculaire de la phospholipase est de 50 kDa).

Exercice 2 :

On suit la cinétique d'hydrolyse enzymatique d'un substrat S en absence et présence de trois inhibiteurs X, Y et Z. Les résultats de la représentation graphique de $1/V$ en fonction de $1/S$ donne la courbe ci-dessous.



- 1) Désigner les courbes en absence et en présence des inhibiteurs X, Y et Z.
- 2) Déterminer $V_{\max}$, K_M en absence d'inhibiteur.
- 3) Déterminer les paramètres cinétiques $V_{\max\text{app}}$ et $K_{M\text{app}}$ en présence de l'inhibiteur compétitif.

Exercice 3 :

Purification d'une enzyme

Une enzyme est purifiée à partir d'un extrait brut selon trois étapes de chromatographies. Compléter le tableau suivant :

Étape de purification	Protéines (mg)	Volume de la fraction (mL)	Activité enzymatique (UI/mL)	Activité totale (UI)	Activité spécifique (UI/mg)	Facteur de purification	Rendement de purification (%)
Extrait brut	3200	10	0,40	4,00	0,00125	1	100
Etape 1	1000	20	0,125	2,50	?	?	?
Etape 2	500	15	0,12	1,80	?	?	?
Etape 3	100	5	0,20	1,00	?	?	25

Bon courage

« La détermination d'aujourd'hui mène au succès de demain »