

UE Propriétés et mécanisme d'action des enzymes

Contrôle 3- 1H

Lundi 8 décembre 2014

2 points /question-

1- Equation de vitesse d'une réaction enzymatique. Comment est appelée cette équation ? Préciser la signification de chaque paramètre de l'équation. Y a-t-il des conditions à l'établissement de cette équation de vitesse ? Représentation graphique de  $v = f(S)$  en précisant les paramètres de la réaction qu'on peut y déterminer

2-Définition de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique. Dans quelle(s) condition(s) est-on en vitesse initiale ?

3-Définition du  $k_{cat}$  d'un enzyme. Comment le déterminer ?

4-Définitions du  $K_m$  de l'enzyme pour le substrat. Plusieurs définitions sont possible. Relation avec l'affinité de l'enzyme pour le substrat. Comment le déterminer ? A quelle constante non catalytique peut être comparé le  $K_m$ ? Définition de cette constante.

5- Mécanisme d'action d'un inhibiteur compétitif avec schéma à l'appui. Effet sur les paramètres cinétiques. Représentation graphique de  $v = f(S)$  en l'absence et en présence d'un inhibiteur compétitif.

6-Comment un activateur peut-il augmenter la vitesse d'une réaction enzymatique ? Représentation graphique de  $v = f(S)$  en l'absence et en présence d'un activateur.

7-Définition et équation de vitesse d'une réaction d'ordre 0. Exemple.

8 Définition et équation de vitesse d'une réaction d'ordre 1. Exemple

9-Exemple d'un complexe multienzymatique Décrivez brièvement sa fonction. Précisez les avantages d'un tel complexe

10-Définition de l'énergie d'activation d'une réaction. Equation montrant sa relation avec d'autres paramètres que l'on précisera. Comment déterminer l'énergie d'activation d'une réaction enzymatique (représentation graphique)?

UE Propriétés et mécanisme d'action des enzymes

Contrôle 3- 1H

Lundi 8 décembre 2014

2 points /question-

1- Equation de vitesse d'une réaction enzymatique. Comment est appelée cette équation ? Préciser la signification de chaque paramètre de l'équation. Y a-t-il des conditions à l'établissement de cette équation de vitesse ? Représentation graphique de  $v = f(S)$  en précisant les paramètres de la réaction qu'on peut y déterminer

2-Définition de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique. Dans quelle(s) condition(s) est-on en vitesse initiale ?

3-Définition du  $k_{cat}$  d'un enzyme. Comment le déterminer ?

4-Définitions du  $K_m$  de l'enzyme pour le substrat. Plusieurs définitions sont possible. Relation avec l'affinité de l'enzyme pour le substrat. Comment le déterminer ? A quelle constante non catalytique peut être comparé le  $K_m$ ? Définition de cette constante.

5- Mécanisme d'action d'un inhibiteur compétitif avec schéma à l'appui. Effet sur les paramètres cinétiques. Représentation graphique de  $v = f(S)$  en l'absence et en présence d'un inhibiteur compétitif.

6-Comment un activateur peut-il augmenter la vitesse d'une réaction enzymatique ? Représentation graphique de  $v = f(S)$  en l'absence et en présence d'un activateur.

7-Définition et équation de vitesse d'une réaction d'ordre 0. Exemple.

8 Définition et équation de vitesse d'une réaction d'ordre 1. Exemple

9-Exemple d'un complexe multienzymatique Décrivez brièvement sa fonction. Précisez les avantages d'un tel complexe

10-Définition de l'énergie d'activation d'une réaction. Equation montrant sa relation avec d'autres paramètres que l'on précisera. Comment déterminer l'énergie d'activation d'une réaction enzymatique (représentation graphique)?

Université de Strasbourg  
Faculté des Sciences de la Vie  
Licences BMC, BCPO, Chimie biologie

UE Propriétés et mécanisme d'action des enzymes

Contrôle 2- 45 min

Lundi le 10 Novembre 2014

**Les réactions couplées dans le métabolisme cellulaire.**

Après avoir montré la nécessité et l'intérêt biologique des réactions couplées on développera le principe de ces réactions et on précisera les conditions requises à leur réalisation. Ensuite, on illustrera le principe par la description de la réaction de formation de la glutamine a) sous la forme libre et b) sous la forme liée à l'ARNt (ou ARNt-dépendante) et on précisera quels organismes utilisent la seconde voie de formation de la glutamine .

La structure des métabolites (petits réactants) et la nature des enzymes impliqués dans les réactions sont demandées.

La qualité et la logique de la présentation seront prises en compte dans la notation.

Université de Strasbourg  
Faculté des Sciences de la Vie  
Licences BMC, BCPO, Chimie biologie

UE Propriétés et mécanisme d'action des enzymes

Contrôle 1- 30 min

**Le doigt de zinc.** Propriétés structurales et fonctionnelles. Préciser la nature des interactions qui stabilisent cette structure . Dans quelles protéines peut-on trouver ce domaine protéique?

*L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée de l'épreuve. Les appareils doivent impérativement être éteints. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme calculatrice. Aucun document n'est autorisé pendant l'épreuve.*

N° ANONYMAT :

**Exercice 1 : (4 points)**

Le  $^{32}\text{P}$  est instable et se transforme en  $^{32}\text{S}$  :  $^{32}\text{P} \rightarrow ^{32}\text{S} + 1e^-$

Dosage de  $^{32}\text{P}$  dans un échantillon :

Temps (jours)	0	5	10	15	20
$^{32}\text{P}$	$1,0 \cdot 10^{15}$		$5,9 \cdot 10^{14}$	$4,5 \cdot 10^{14}$	$3,5 \cdot 10^{14}$

1) Quelle est l'expression de la loi de décroissance radioactive ? Quelle est la constante de vitesse de la réaction ?

2) Combien reste-t-il d'atomes radioactifs au bout de 5 jours ?

3) Quelle est la proportion de  $^{32}\text{P}$  restant au bout de 30 jours, en pourcentage ?

4) Quelle est la demi-vie du  $^{32}\text{P}$  ?

**Exercice 2 : (4,5 points)**

1U d'enzyme correspond à la quantité d'enzyme catalysant la production de  $1\mu\text{mol}$  de produit P/min.

Un extrait enzymatique brut contient 4,3 mg de protéines/mL. 30  $\mu\text{L}$  de l'extrait catalysent la réaction enzymatique avec une vitesse initiale de 0,63  $\mu\text{mole}$  de produit formé en 3 min. Le volume total de l'extrait est de 30 mL, et on sait que l'enzyme est pure à 22%.

Données :

Masse molaire de l'enzyme = 350 000 g/mole

L'enzyme est pourvue de 3 sites actifs équivalents.

- 1) Déterminer l'activité spécifique et l'activité totale de l'extrait enzymatique.
- 2) Déterminer l'activité molaire de l'enzyme ainsi que l'activité/mol de site.
- 3) Déterminer la constante catalytique/mole de site enzymatique et la durée du cycle catalytique/ mole de site enzymatique.
- 4) Si la quantité d'enzyme utilisée dans la réaction est de 20 nmole, combien de  $\mu\text{mol}$  de produit seront formées en 2 min ?

### Exercice 3 : (3 points)

Afin de déterminer l'affinité du substrat pour l'enzyme, une dialyse à l'équilibre est réalisée. La membrane sépare 2 compartiments de même volume A et B, l'enzyme est introduite dans le compartiment A. La taille des pores de la membrane ne permet pas à l'enzyme de diffuser, en revanche le substrat peut passer sans problème d'un côté à l'autre de la membrane. Les conditions du milieu sont telles que le substrat ne peut être transformé mais l'interaction ES n'est pas affectée.

Au départ, 50  $\mu\text{M}$  d'enzyme sont introduit dans le compartiment A et  $2 \cdot 10^{-4}\text{M}$  de substrat dans le compartiment B.

A l'équilibre, on détecte la présence de 10  $\mu\text{M}$  d'enzyme libre dans le compartiment A.

1) Quels sont les composés dans les compartiments A et B à l'équilibre ? Quelle est leur concentration ?

2) Quelle est la constante d'association du substrat pour l'enzyme ?

### Exercice 4 : (2,5 points)

La méthionyl-tRNA synthétase de *E. coli* est dans un premier temps surexprimée puis purifiée à travers différentes étapes de purification. Les vitesses initiales sont obtenues à partir de 20  $\mu\text{g}$  de protéines.

Etape de purification	Protéines (mg)	Vitesse initiale ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ )	Activité spécifique (U/mg)	Activité totale (U)	Enrichissement par rapport à EB	Rendement (%) par rapport à EB
Extrait brut (EB)	1500	0,12			1	100
Précipitation au sulfate ammonium	462		15			
Chromatographie d'exclusion					4,3	67

### Questions de cours :

1) Enzymes michaeliennes. La représentation de Hanes-Woolf est une des représentations graphiques utilisées pour déterminer  $K_m$  et  $V_{max}$ . Dans ce cas le rapport  $[S]/V_0$  est exprimé en fonction de  $[S]$ . Quelle est l'équation correspondante? Représentez schématiquement ce graphe en y indiquant les valeurs importantes. (2 points)

2) Interaction d'une protéine avec son ligand. Représenter schématiquement le graphique de Scatchard en y indiquant les valeurs importantes. Définir les termes utilisés. (2 points)

3) Enzymes allostériques. Donnez la formule empirique de Hill en définissant chaque terme. Représenter schématiquement le graphique de Hill en y indiquant les valeurs importantes. (2 pts)