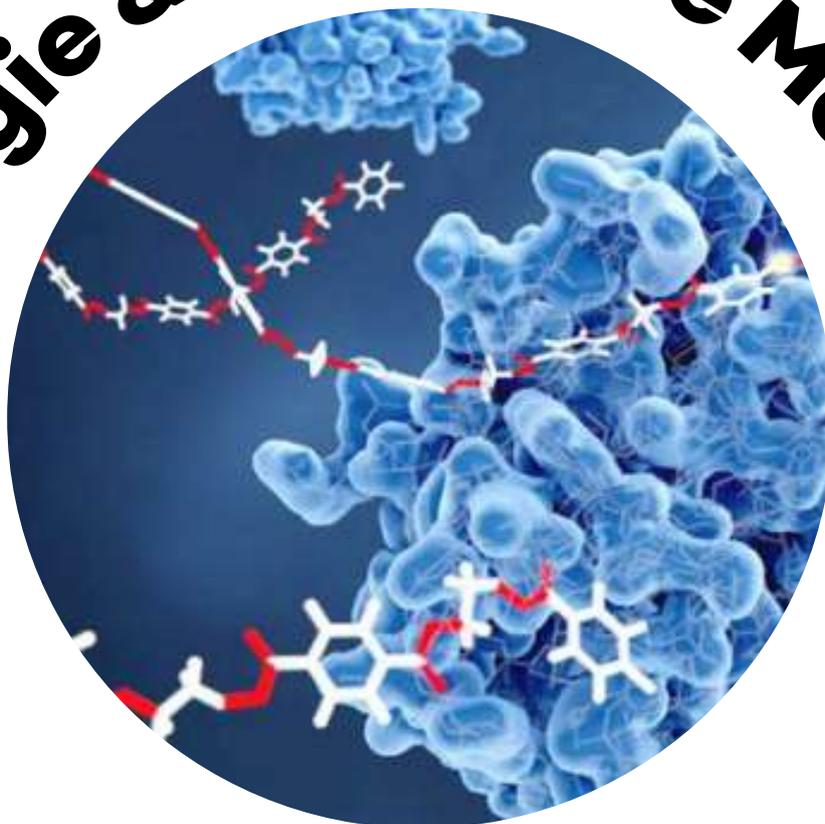


# Enzymologie & Biochimie Métabolique



SCIENCES DE LA  
VIE



**Shop**



- Cahiers de Biologie + Lexique
- Accessoires de Biologie



**Etudier**



Visiter [Biologie Maroc](http://www.biologie-maroc.com) pour étudier et passer des QUIZ et QCM en ligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.



**Emploi**



- CV • Lettres de motivation • Demandes...
- Offres d'emploi
- Offres de stage & PFE



## TD d'Enzymologie, Module Enzymologie et Biochimie Métabolique, Semestre S4

### Exercice N°1

On étudie la réaction suivante :



En mesurant la concentration de A en fonction du temps.

t (min)	1	2	3	6	10	14	20	26	33	40
[A] (mM)	5	4,82	4,7	4,25	3,76	3,3	2,6	2	0,94	0,15

1. Tracer la représentation de la concentration de A en fonction du temps. Commentez cette représentation.
2. Calculer la vitesse de la réaction

### Exercice N°2

Une enzyme E catalyse la réaction d'hydrolyse:  $A + H_2O \rightleftharpoons B + C$

On suit la cinétique d'apparition du produit C, pour différentes concentrations en substrat A.

Les valeurs obtenues (en  $\mu$ moles de C par tube) sont présentées dans le tableau suivant:

Temps (min)	[S0] (mM)				
	10	20	30	100	150
0	0	0	0	0	0
2,5	0,9	1,2	1,9	3,2	3,6
5	1,8	2,4	3,9	6,4	7,1
7,5	2,5	3,5	5,6	9,6	10,7
12,5	3,7	6	7,6	15,2	17,6
17,5	4,4	8	9,1	18,3	

1. Représentez les cinétiques et déterminez la vitesse initiale de chacune d'elle.  
Dans quelle condition de concentration du substrat A s'est-on placé pour suivre ces cinétiques? Pourquoi ne se préoccupe-t-on pas de la concentration de l'eau ?
2. Tracez et discutez la courbe de saturation.  
Déterminez les paramètres cinétiques de l'enzyme à partir de cette représentation.
3. Déterminez les paramètres cinétiques à l'aide de la représentation des doubles inverses.

Expliquez la différence entre les valeurs déterminées à partir de ces deux représentations.

### **Exercice n°3 :**

L'étude préliminaire de l'activité de deux enzymes (E1 et E2) vis-à-vis du même substrat donne les résultats suivants:

[S0] (mM)	1	2	3	4	5
E1 vi ( $\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$ )	0,040	0,078	0,124	0,160	0,205
E2 vi ( $\mu\text{M}\cdot\text{min}^{-1}$ )	0,270	0,280	0,275	0,280	0,285

Tracez la courbe  $v_i = f([S0])$ . Quelles conclusions pouvez-vous en tirer ?

### **Exercice N°4**

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse des esters de l'acide ortho-phosphorique. Pour suivre l'activité enzymatique, on utilise un substrat synthétique, le paranitrophénol-phosphate (M. M. =  $371 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) qui libère du paranitrophénol (M. M. =  $139 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) qui absorbe à 410 nm avec un coefficient d'extinction pondéral:  $\epsilon^{1\%} = 1260 \text{ g}^{-1}\cdot 100 \text{ mL}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

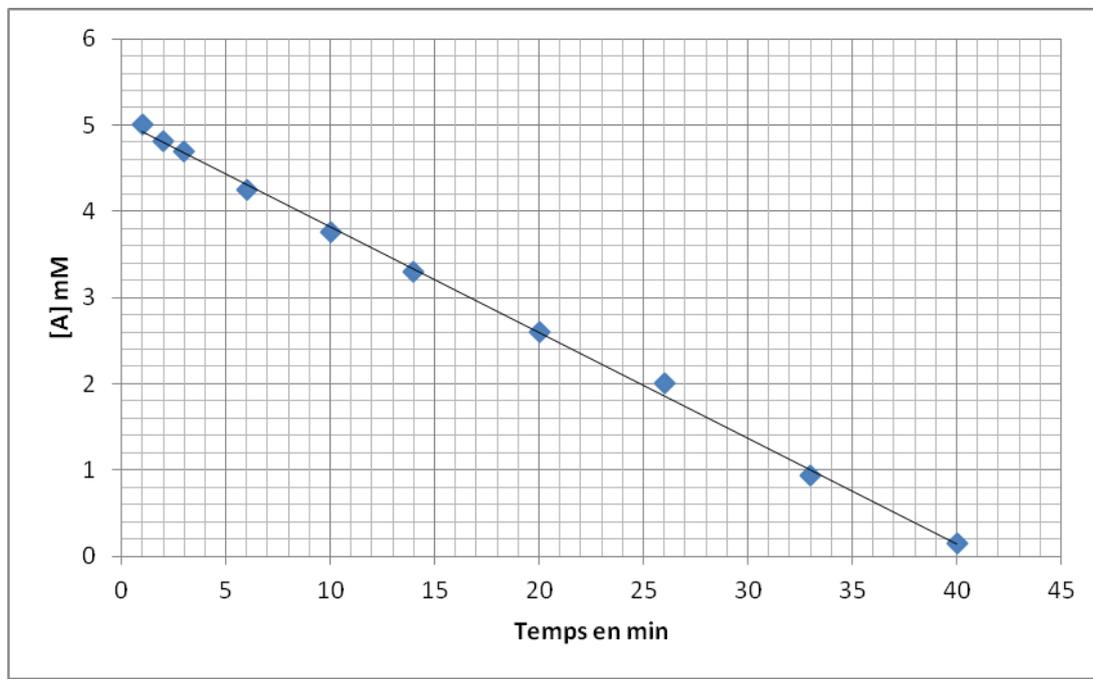
Chaque réaction est effectuée dans un volume réactionnel de 10 ml contenant 0,2 ml d'enzyme à une concentration initiale de 10 mg/ml. On obtient les résultats suivants (longueur du trajet optique = 1 cm):

[S0] (mg/tube)	0	0,26	0,39	0,65	1,50	1,95	3,80
vi (U. DO. $\cdot\text{min}^{-1}$ )	0	0,147	0,167	0,190	0,212	0,231	0,238

Déterminez les valeurs des paramètres cinétiques de cette enzyme vis-à-vis de ce substrat (on exprimera la concentration en molarité).

## Correction TD Enzymologie S4

### Exercice N°1 :

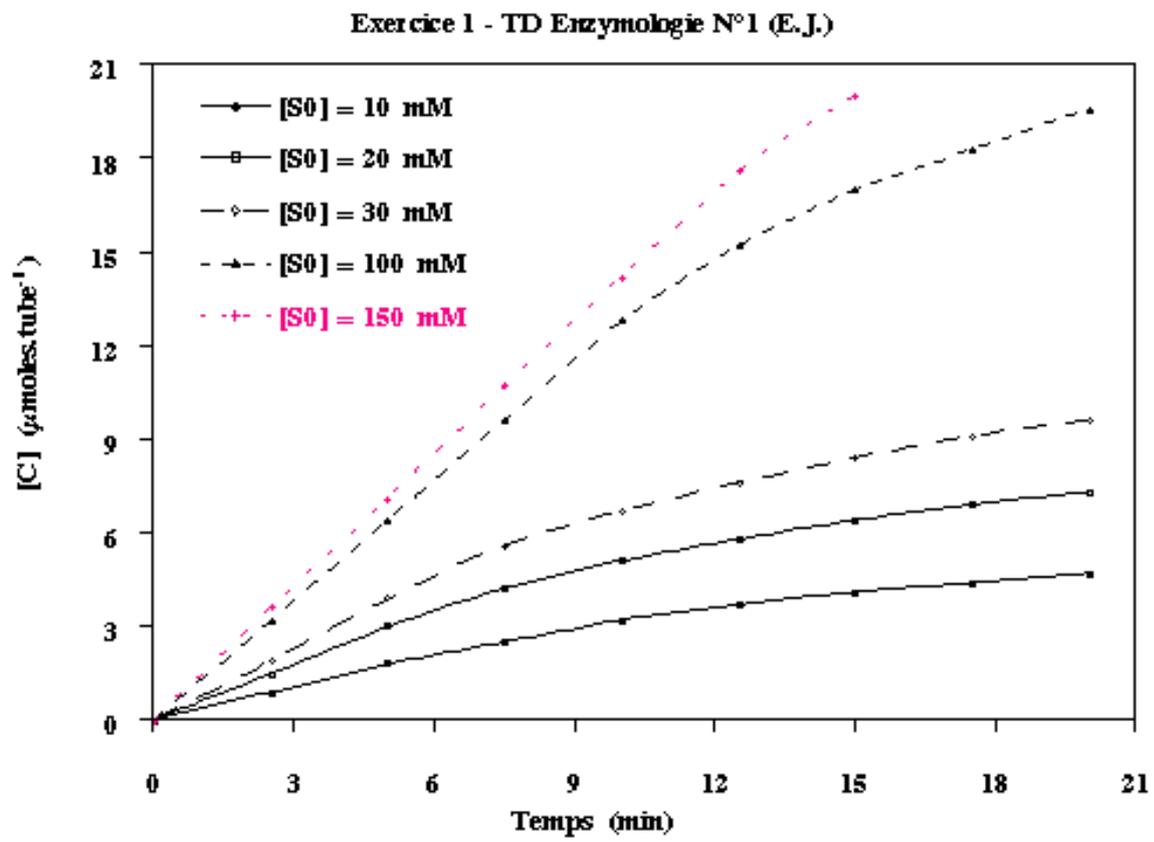


La vitesse est calculée dans la partie linéaire. C'est une courbe linéaire c-à-d que la concentration de substrat est suffisante et on peut calculer la vitesse sur toute la longueur de la courbe :

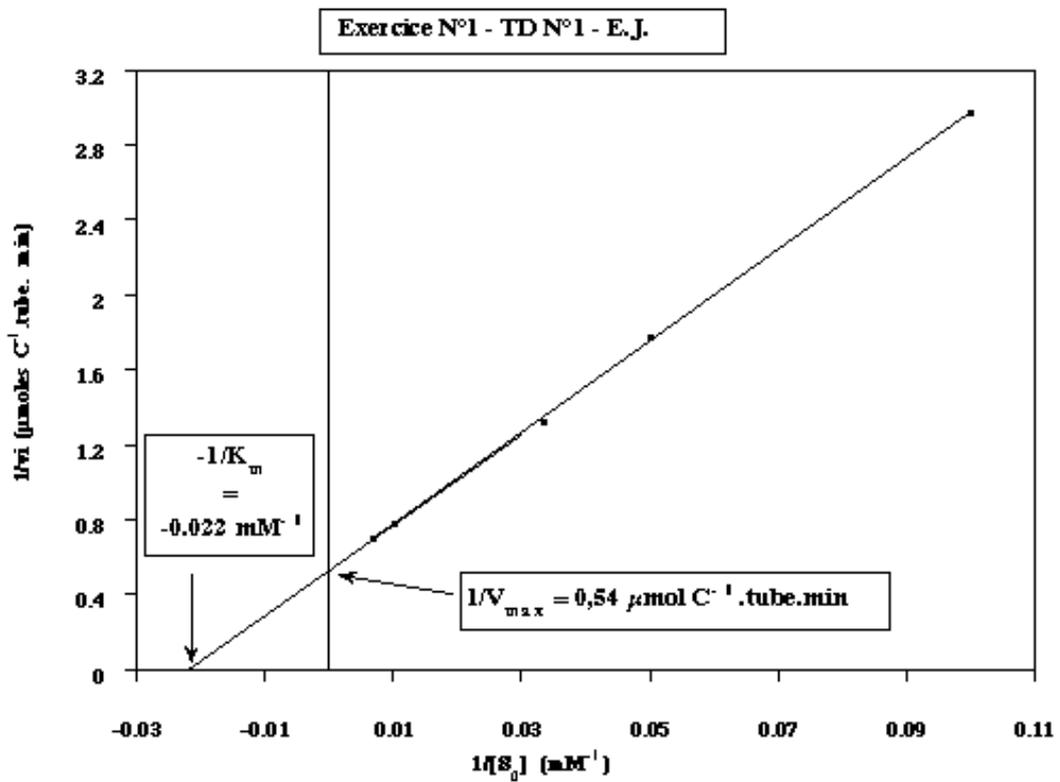
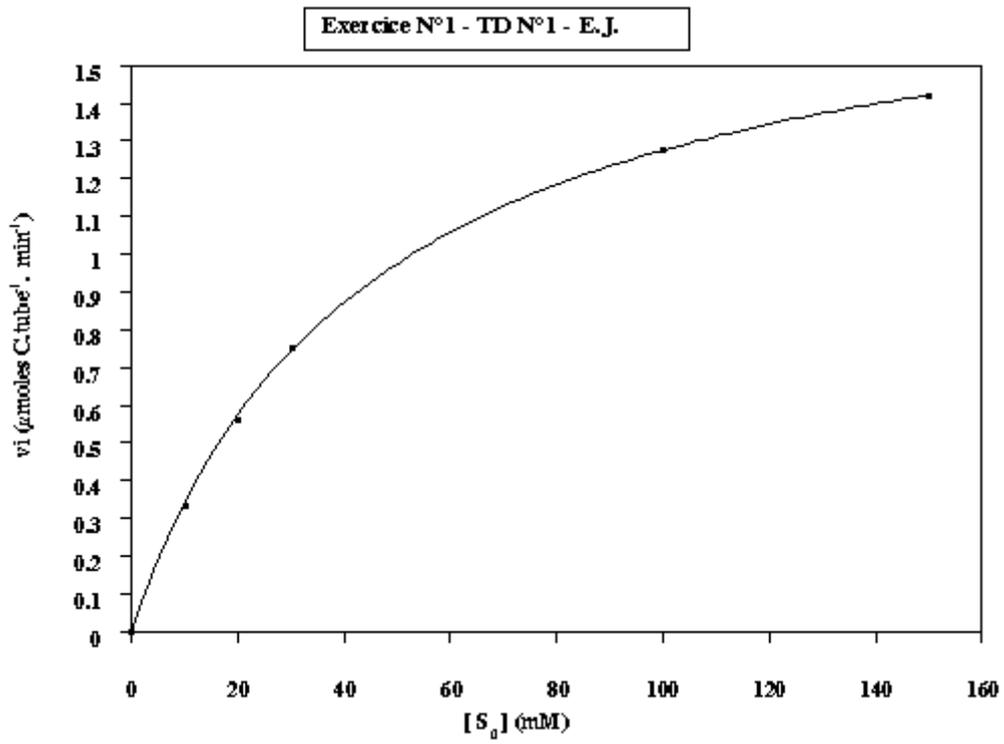
$$V_i = 2/25 = 0.08 \text{ mM/ min}$$

## Exercice N°2 :

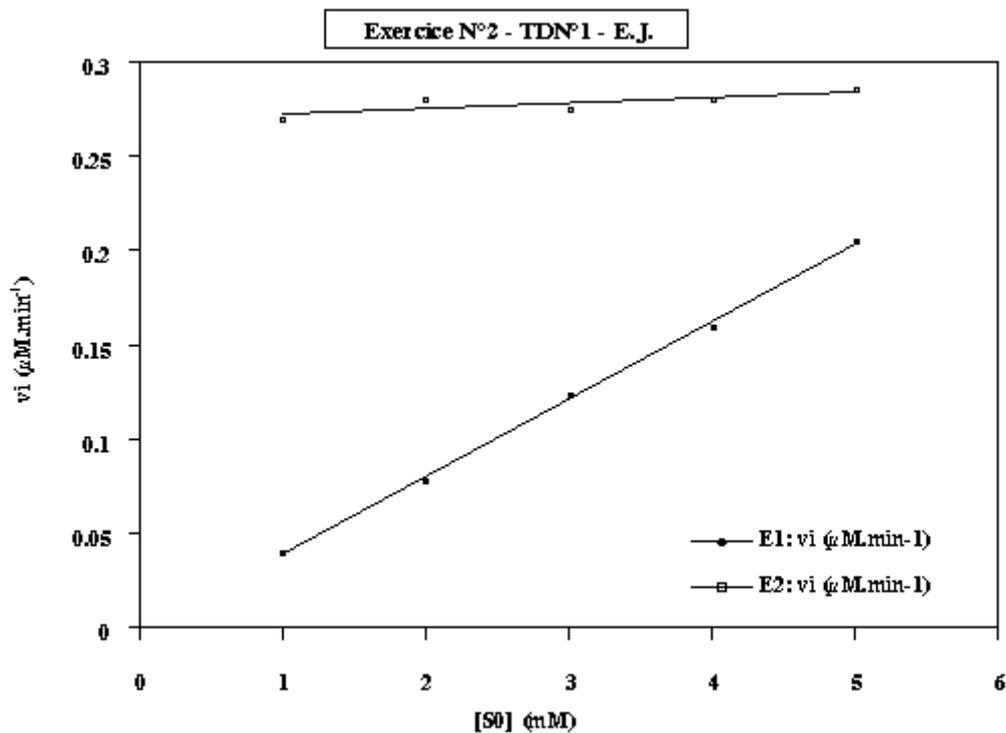
1-



2-



### Exercice N°3 :

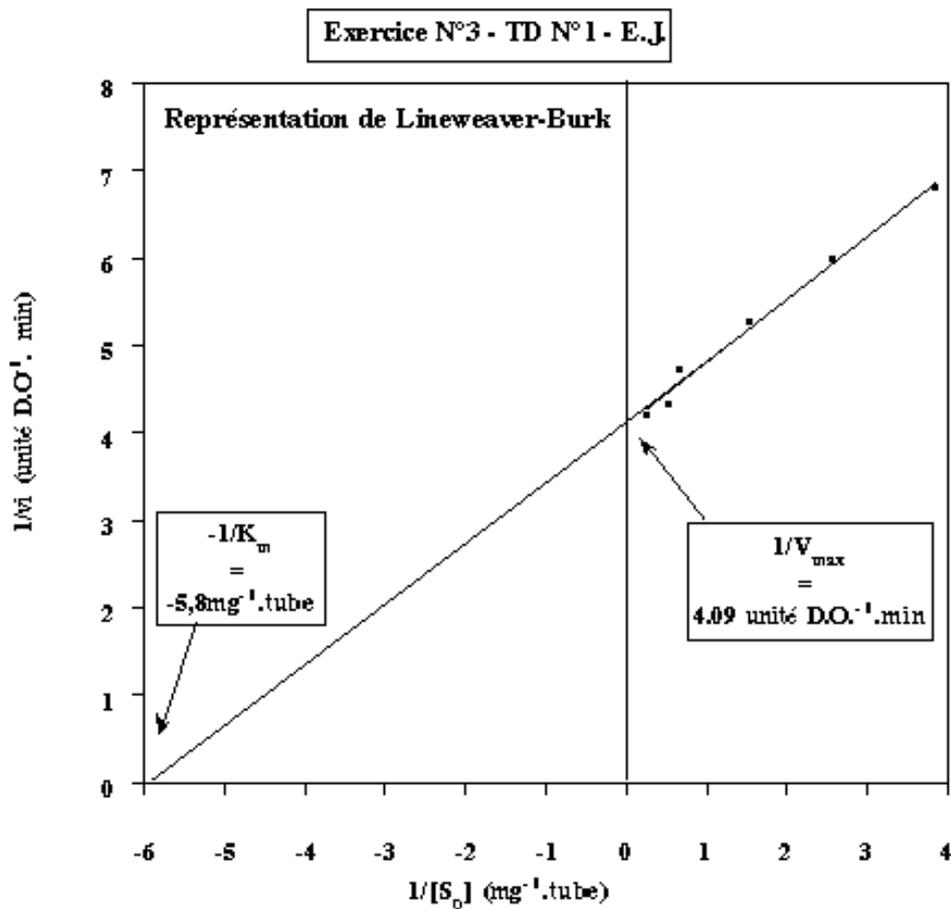
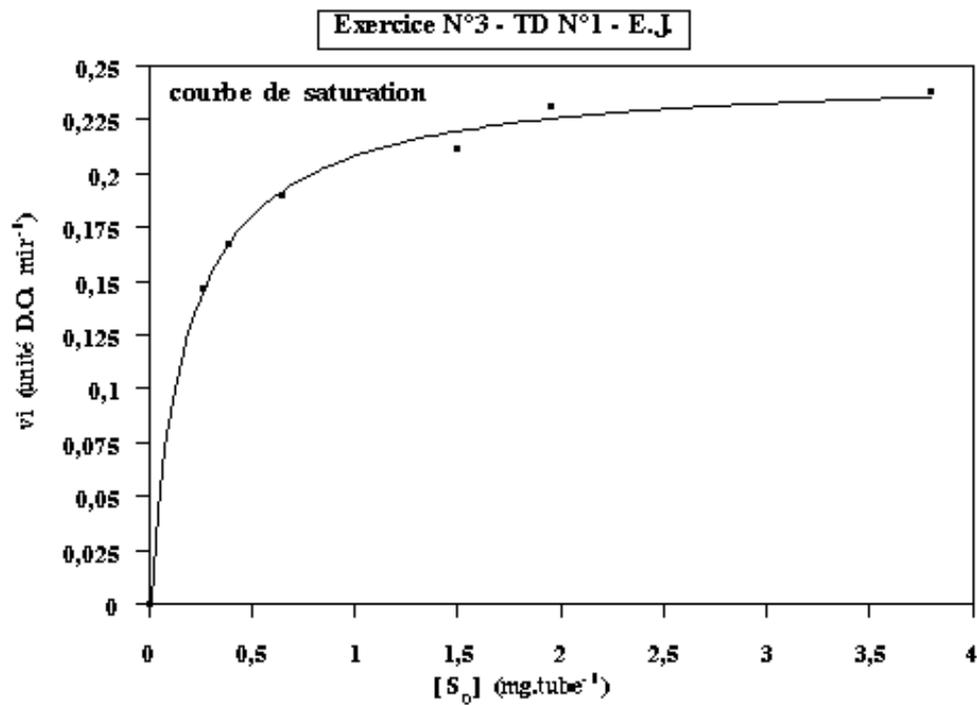


La gamme de concentrations de substrat étudiée (1 à 5 mM) n'est donc adaptée à aucune des 2 enzymes :

- pour E1, la gamme n'est pas assez grande  $\rightarrow$  on ne détermine que les premiers points de la courbe de saturation.
- pour E2, la gamme étudiée ne correspond qu'aux  $v_i$  les plus élevées  $\rightarrow$  il faut étudier des concentrations supplémentaires inférieures à 1 mM pour avoir le début de la courbe de saturation.
- Par ailleurs :  $K_M^{E1} > K_M^{E2}$ . En effet, pour  $[S]_0 = 5$  mM, E2 est saturée alors que l'on est au début de la courbe de saturation pour E1.
- Vue l'allure de ces 2 courbes de saturation, est probable que :

$$V_{\text{Max}}^{E1} > V_{\text{Max}}^{E2}$$

## Exercice N°4 :



Les valeurs des paramètres cinétiques déterminées d'après la représentation des doubles inverses (figure ci-dessus) sont :

- $1/V_{\text{Max}} = 4,09 \text{ (unités D.O.)}^{-1} \cdot \text{min}$
- $-1/K_M = -5,8 \text{ mg}^{-1} \cdot \text{tube}$

Donc :

- $V_{\text{Max}} = 0,24 \text{ unités D.O. min}^{-1}$
- $K_M = 0,17 \text{ mg.tube}^{-1}$

### **a) Calcul de $V_{\text{Max}}$**

Une vitesse est la variation d'une concentration (et non d'une quantité) par unité de temps.

La valeur du coefficient d'extinction pondéral donné pour le PNP est :  $\epsilon^{1\%} = 1260 \text{ g}^{-1} \cdot 100 \text{ mL} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Ce qui signifie qu'une solution de PNP à 1% a une absorbance de 1260 unités D.O., pour un trajet optique de 1 cm.

- Donc : 1% = 1g dans 100 mL → 1260 unités D.O.**
- <==> 139 g dans 100 mL → 1260 x 139 unités D.O.**
- <==> 139 g dans 1000 mL → (1260 x 139) / 10 unités D.O.**
- <==> 1 mole de PNP par litre → 17514 unités D.O.**

On obtient ainsi la valeur du coefficient d'extinction molaire :

$$\epsilon_M^{\text{PNP}} = 17514 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

On peut maintenant recalculer  $V_{\text{Max}}$  à partir de cette valeur et de la loi de Beer-Lambert :

$$V_{\text{Max}} = 0,24 \text{ unités D.O. min}^{-1}$$

$$V_{\text{Max}} = 0,24 / (17511 \times 1) = 1,37 \cdot 10^{-5} \text{ M.min}^{-1} = 13,7 \mu\text{M.min}^{-1}$$

### b) Calcul de $K_M$

La masse molaire dont il faut tenir compte est celle du **SUBSTRAT**, puisque l'on calcule  $K_M$   
le volume réactionnel est de 10 mL.

Donc :  $K_M = 0,17 \text{ mg.tube}^{-1} = 0,17 \cdot 10^{-3} \text{ g dans } 10 \text{ mL}$ .

$\Leftrightarrow K_M = (0,17 \cdot 10^{-3} / 371) \text{ moles dans } 10 \text{ mL}$

$K_M = ((0,17 \cdot 10^{-3} \times 1000) / (371 \times 10)) \text{ moles dans } 1\text{L}$ .

$$K_M = 45,8 \mu\text{M}$$

# Bon courage



## LIENS UTILES 🙌

### Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

