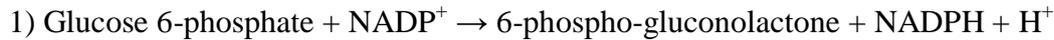


EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION 2010 ZONE SUD

PROPOSITIONS DE REPONSES



L'activité de l'enzyme est déterminée par la mesure en conditions optimales, de la cinétique d'apparition à 340 nm du NADPH produit.

2)

a) vitesse initiale = $\frac{\Delta(NADPH)}{\Delta t} = \frac{0,300}{5 \times 2} \times \frac{10^6}{6300} = 4,76 \mu\text{mol.L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ soit une concentration catalytique de 4,76 U/L.

b) cette activité correspond à un ajout de 0,1 mg de protéines totales pour 2 mL ou 50 mg pour 1 L

Donc activité spécifique de A = $\frac{4,76}{0,05} = 95 \text{ U/g}$

3)

- concentration catalytique de B = $\frac{0,358}{2} \times \frac{10^6}{6300} = 28,4 \text{ U/L}$

- cette activité correspond à un ajout de 1 μg de protéines totales pour 2 mL ou 500 μg pour 1 L

Donc activité spécifique de B = $\frac{28,4}{500 \cdot 10^{-6}} = 56800 \text{ U/g}$

- degré de purification = $\frac{56800}{95} = 598$

4)

a) - SDS : détergent anionique confère approximativement à toutes les holoprotéines une charge négative et un même rapport charge/masse (il permet aussi de linéariser les protéines).

- le mercaptoéthanol coupe les ponts disulfures inter et intra chaînes. En cela il dissocie les sous-unités reliées par des ponts S-S et complète la linéarisation (amorcée par le SDS) des sous unités possédant des ponts S-S intra chaînes.

b) En conséquence la protéine native de masse moléculaire 320 kDa (chromato d'exclusion en conditions non dénaturantes) est probablement un tétramère constitué de 4 sous-unités identiques de 80 kDa (électrophorèse en conditions dénaturantes : SDS, mercaptoéthanol) sans que l'on puisse préciser leur mode d'association.

Il est conseillé de porter à ébullition le mélange protéine-SDS-mercaptoéthanol avant dépôt sur le gel d'électrophorèse pour l'efficacité du SDS et du mercaptoéthanol et donc une meilleure séparation des protéines.

c) L'éluat **B** est apparemment pur. Son activité spécifique exprime donc V_{max} rapportée à 1 g/L d'enzyme. On en déduit :

activité moléculaire spécifique = $\frac{56800 \cdot 10^{-6}}{\frac{1}{320000}} = 18176 \text{ min}^{-1}$

***Important :** Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent.