

ÉPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Décembre 2015

EXERCICE N° 4
ÉNONCÉ

On veut déterminer la constante de Michaelis K_M et la vitesse maximale V_{max} d'une préparation purifiée **A** de glucose-6-phosphatase (EC 3.1.3.9) contenant 8 mg.L^{-1} de protéines totales.

Dans ce but quatre cinétiques sont effectuées sur un mélange **B** réalisé à partir de $50 \mu\text{L}$ de **A** et de $450 \mu\text{L}$ d'un tampon contenant des concentrations variables de glucose-6-phosphate. La vitesse initiale V_0 est exprimée par la concentration en glucose libéré par unité de temps. Les concentrations en substrat et les vitesses initiales mesurées dans chaque mélange sont reportées dans le tableau ci-dessous.

S ($\mu\text{mol.mL}^{-1}$)	V_0 ($\mu\text{mol.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$)
1,25	1,52
2,5	2,32
5	3,28
10	4,00

Question N°1

Quels sont chez l'Homme, le rôle métabolique de la glucose-6-phosphatase et les localisations tissulaires de l'enzyme ?

Question N°2

a) Déterminer par une représentation graphique linéaire (Lineweaver-Burk ou Eadie-Hofstee) K_M et V_{max} dans le mélange **B** en précisant les unités des axes des abscisses et des ordonnées ainsi que les expressions des intersections avec les axes des x et des y. Les concentrations seront exprimées par mL et les temps en min.

b) Quelles seraient les valeurs de K_M et V_{max} mesurées directement dans une préparation purifiée **A'** obtenue à partir de **A** diluée au demi ?

Question N°3

La concentration cellulaire en glucose-6-phosphate est d'environ $0,2 \text{ mM}$. Quel serait le pourcentage des sites actifs de l'enzyme occupés par le glucose-6-phosphate (on suppose que l'on est dans des conditions de vitesse initiale) ?

Question N°4

Le phosphate est un inhibiteur compétitif de l'enzyme. Quelles seraient les valeurs attendues pour K_M et V_{max} dans le mélange **B** de l'énoncé contenant une concentration finale en phosphate égale à $3 k_i$?