

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 3 (40 points)****Enoncé**

On étudie une solution partiellement purifiée d'uréase (EC 3.5.1.5) contenant 12 mg.mL^{-1} de protéines totales.

Questions**QUESTION N° 1 :**

Sachant que la formule de l'urée est $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, écrire la réaction catalysée par cette enzyme.

QUESTION N° 2 :

On veut déterminer K_m et V_{max} de cette enzyme sur une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ de la solution initiale.

a) Indiquer le(s) paramètre(s) qui doit (doivent) varier et celui (ceux) qui doit (doivent) être préalablement défini(s) et maintenu(s) constant(s).

b) La vitesse est mesurée en conditions de vitesse initiale. Indiquer pourquoi et préciser comment la mesurer.

QUESTION N° 3 :

La V_{max} mesurée dans le milieu réactionnel sur la solution purifiée diluée au $1/10^{\text{ème}}$ est de : $96 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$ de produit formé.

Par ailleurs, on constate que pour une concentration en urée dans le milieu réactionnel de $5,6 \text{ mmol.L}^{-1}$, la vitesse mesurée est de $76,8 \text{ } \mu\text{mol.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$.

Calculez K_m et V_{max} de l'uréase dans la solution purifiée.

QUESTION N° 4 :

Déterminer la pureté (en %) de la préparation purifiée, sachant que la masse moléculaire de l'uréase est de 224 kDa et que $k_{\text{kat}} = 240\,000 \text{ min}^{-1}$