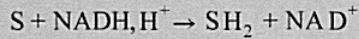


EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION**Exercice N° 1 (40 points)****Enoncé**

La concentration catalytique d'une déshydrogénase X à cinétique michaelienne est déterminée par la mesure de la vitesse initiale en conditions conventionnelles.

La réaction catalysée est la suivante :



Le protocole opératoire retenu est :

Introduire successivement dans une cuve de spectrophotomètre de 1 cm de trajet optique :

Tampon ($30 \cdot 10^{-3}$ mol/L, pH 7,35)	246 μL
Solution NADH, H^+ ($1 \cdot 10^{-3}$ mol/L)	49 μL
Echantillon contenant X	10 μL

Au bout de 2 minutes, on initialise la réaction par 10 μL d'une solution tamponnée du substrat S.

Note : le coefficient d'absorbance linéique molaire (ϵ) du NADH, H^+ à 340 nm est de $6300 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Questions**QUESTION N° 1 :**

- a) Pour déterminer la concentration catalytique de l'enzyme X, quelle doit être la concentration minimale de substrat S dans le milieu réactionnel si l'on souhaite mesurer plus de 90 % de l'activité enzymatique maximale ? La constante de Michaelis de X pour S est de $1 \cdot 10^{-5}$ mol/L.
- b) En déduire la concentration minimale requise de substrat dans la solution tamponnée de S.

QUESTION N° 2 :

Sachant qu'à 340 nm, l'absorbance du tampon est nulle et que l'échantillon dilué au $1/100^{\text{ème}}$ dans ce tampon présente une absorbance de 0,0305 sous 1 cm de trajet optique, quelle est l'absorbance de la solution réactionnelle avant initialisation par les 10 μL de la solution de substrat S ?

QUESTION N° 3 :

Quelles sont les valeurs des coefficients reliant la variation d'absorbance, mesurée en conditions de vitesse initiale toutes les 30 secondes à 340 nm, à la concentration catalytique de X dans l'échantillon, exprimée en U/L d'une part et en kat/L d'autre part ?