

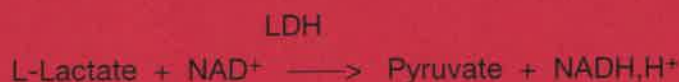
EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 3 (40 points)

Enoncé

On souhaite déterminer l'activité enzymatique de la lactate déshydrogénase (LDH, EC 1.1.1.27) contenue dans une solution d'extrait de tissu musculaire partiellement purifié.

Le principe réactionnel est le suivant, à pH 9,4 (37,0 °C) :



Le mode opératoire retenu est le suivant :

- Pré-incuber 3,00 mL de réactif dans une cuve de 1 cm de trajet optique, placée dans un spectrophotomètre thermostaté à 37,0 °C
- Ajouter 150 µL de la solution d'extrait tissulaire, préalablement dilué au 1/100^{ème}
- Mélanger et lire les absorbances toutes les 30 s à 340 nm.

La variation d'absorbance maximale moyenne mesurée ($\Delta A / 30$ s) est de 0,032.

Questions**QUESTION N° 1 :**

Quels sont les composants présents dans le réactif ?

Quelles sont les conditions liées à leurs concentrations respectives ?

QUESTION N° 2 :

Justifier le choix de la longueur d'onde pour réaliser les mesures d'absorbance.

Préciser le sens de variation de l'absorbance à cette longueur d'onde.

QUESTION N° 3 :

Calculer la concentration en activité LDH (en U/L) contenue dans le milieu réactionnel et dans la solution d'extrait tissulaire partiellement purifié.

On donne le coefficient d'absorbance linéique molaire (ϵ) du NADH,H⁺ : 6300 L.mol⁻¹.cm⁻¹.

EPREUVE D'EXERCICE D'APPLICATION

Exercice N° 3 (40 points)

QUESTION N° 4 :

Pour obtenir l'extrait tissulaire partiellement purifié, on est parti de 50 mL d'une solution centrifugée d'un homogénat initial ayant une concentration catalytique en LDH de 8300 U/L et contenant 15,6 g/L de protéines.

Après purification, on obtient 15 mL d'une solution dont la concentration en protéines est de 0,85 g/L.

- Quel est le rendement de la purification de la LDH ?
- Quelle est l'activité spécifique de la solution d'homogénat initial ?
- Quelle est l'activité spécifique de la solution d'extrait partiellement purifié ?
- Quel est le degré de purification de la LDH ?

QUESTION N° 5 :

Préciser la structure macromoléculaire des isoenzymes de la LDH.

Quelle est l'isoenzyme qui prédomine dans le muscle squelettique ?

Quelle est l'isoenzyme qui prédomine dans le muscle cardiaque ?