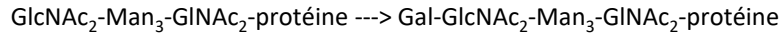


Les questions 5 et 6 peuvent être traitées indépendamment des questions 1 à 4.

La galactosyltransférase est une enzyme membranaire golgienne catalysant la réaction suivante :

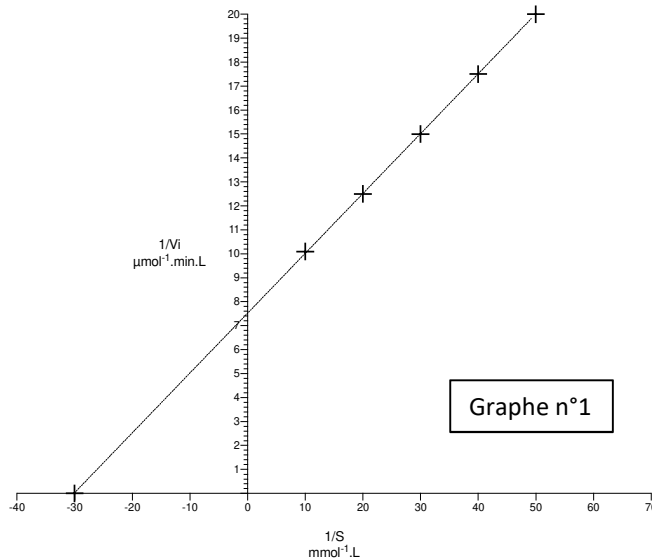


- GlcNAc = N-Acétyle glucosamine ; - Man = mannose ; - Gal = galactose

Une étude enzymatique est réalisée sur une solution purifiée de galactosyltransférase.

Plus précisément, 1 mL d'une même solution d'enzyme est incubé à 37 °C avec 2 ml de différentes solutions tamponnées (pH = 7,0) de substrat et les vitesses initiales (Vi) correspondantes sont déterminées.

On obtient le graphe n°1 suivant :



**Question 1 :**

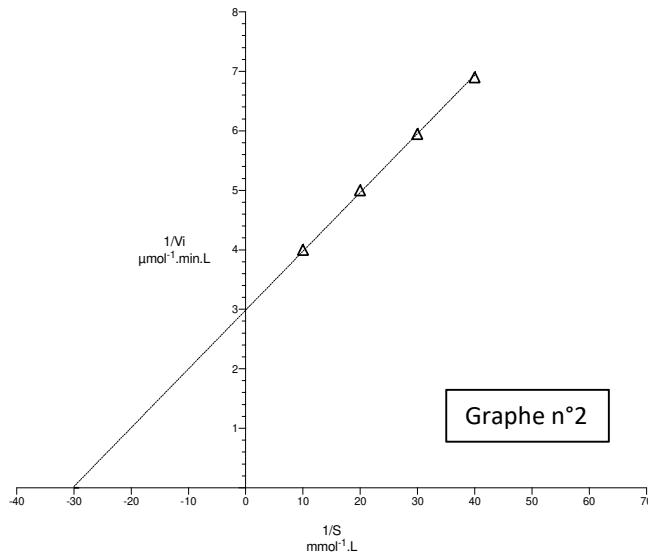
- Compte-tenu du graphe n°1 obtenu, comment se comporte d'un point de vue enzymatique la galactosyltransférase ? Justifiez votre réponse.

**Question 2 :**

- Déterminez graphiquement la Vmax mesurée et le Km mesuré de la galactosyltransférase vis-à-vis du substrat utilisé.

On réalise la même étude avec la solution de substrat précédente enrichie en manganèse (10 nM).

On obtient le graphe n°2 suivant :



**Question 3 :**

- Comment se comporte le manganèse vis-à-vis de la réaction enzymatique étudiée ? Justifiez votre réponse.

**Question 4 :**

Tracez **schématiquement**, sur le même graphe (sur votre copie), les 2 représentations de Michaelis-Menten correspondantes (sans manganèse ajouté et avec manganèse).

Afin de déterminer l'activité enzymatique (en U/L et en nKatal/L) de la galactosyltransférase contenue dans un extrait protéique leucocytaire humain, on utilise une solution de substrat de concentration = 100 Km contenant du manganèse (10 nM). Les conditions opératoires (température, volume d'échantillon, volume de solution tamponnée de substrat) sont identiques à celles décrites plus haut.

La vitesse initiale ( $V_i$ ) mesurée est égale à  $0,023 \text{ mmoles} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$

**Question 5 :**

- Quels sont les intérêts de se placer à une concentration en substrat = 100 Km ?

**Question 6 :**

- Quelle est l'activité enzymatique correspondant à la  $V_i$  mesurée ? En U/L ? En nanoKatal/L ?
- Quelle est l'activité enzymatique (en nanoKatal/L et en mU/L) de l'extrait protéique leucocytaire ?

## Proposition de correction avec barème :

### Note sur 28 à multiplier par 40/28 → note/40

#### Question 1 :

- Compte-tenu du graphe n°1 obtenu, comment se comporte d'un point de vue enzymatique la galactosyltransférase ? Justifiez votre réponse.  
→ On obtient une **droite** en LB : **1 point**. L'enzyme se comporte donc comme une enzyme **Michaelienne** : **1 point**.

#### Question 2 :

- Déterminez graphiquement la Vmax mesurée et le Km mesuré de la galactosyltransférase vis-à-vis du substrat utilisé.  
→ Vmax mesurée =  $1/7,5 = 0,133$  (1 point) **μmoles/min/L** (1 point)  
→ Km mesuré =  $1/30 = 0,033$  (1 point) **mmoles/L** (1 point)

#### Question 3 :

- Comment se comporte le manganèse vis-à-vis de la réaction enzymatique étudiée ? Justifiez votre réponse.  
→ Le manganèse se comporte comme un **activateur/cofacteur** (2,5 points) de la réaction enzymatique étudiée.  
→ En présence de manganèse, quelque soient les valeurs de S (ou 1/S) envisagées, **les 1/Vi correspondantes sont toujours plus basses qu'en l'absence de manganèse. Donc, les Vi en présence de manganèse sont toujours plus fortes que celles sans manganèse** (2 points). On note que le **Km apparent ou mesuré** (1 point) **est le même avec ou sans manganèse** (1 point) ; la **Vmax mesurée/apparente** (0,5 point) **en présence de manganèse est plus forte** (0,5 point).  
- Si **superposition des 2 graphes** : + 2 points de « bonus ».

#### Question 4 :

- Tracez schématiquement, sur le même graphe, les 2 représentations de Michaelis-Menten correspondantes (sans manganèse ajouté et avec manganèse).  
Un graphe avec **S en abscisse** (1 point), **Vi en ordonné** (1 point) et les **bonnes unités** (0,5 + 0,5 point). **Le graphe avec manganèse systématiquement au dessus de celui sans manganèse** (1 point) et, grosso-modo, **mêmes Km** (1 point) = concentration en substrat correspondant à Vmax/2.

#### Question 5 :

- Quels sont les intérêts de se placer à une concentration en substrat = 100 Km ?  
S = 100 km, donc on est **proche de la Vmax** (1 point). Plus précisément, on est à **100/101 Vmax** (0,5 point). **Pente la plus forte donc à priori plus facile à mesurer** (0,5 point) **pendant un temps plus long** (0,5 point) (souvenir de TPBBM...).

#### Question 6 :

- Quelle est l'activité enzymatique correspondant à la Vi mesurée ? En U/L ? En nKatal/L ?  
 $V_i = 0,023 \text{ mmoles} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} = 23 \text{ } \mu\text{moles}/\text{min}/\text{L} \implies \text{AE} = 23 \text{ U/L}$  (2 points)  
 $V_i = 0,023 \text{ mmoles} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{L}^{-1} = 23000 \text{ nanomoles}/\text{min}/\text{L} = 23000/60 \text{ nanomoles}/\text{sec}/\text{L} \implies \text{AE} = 383,33 \text{ nKatal/L}$  (2 points)
- Quelle est l'activité enzymatique (en nKatal/L et en mU/L) de l'extrait protéique leucocytaire ?  
**X3** (1 point) = **1150 nKatal/L** (1 point) =  $23000 \times 3 = 69000 \text{ mU/L}$  (1 point).