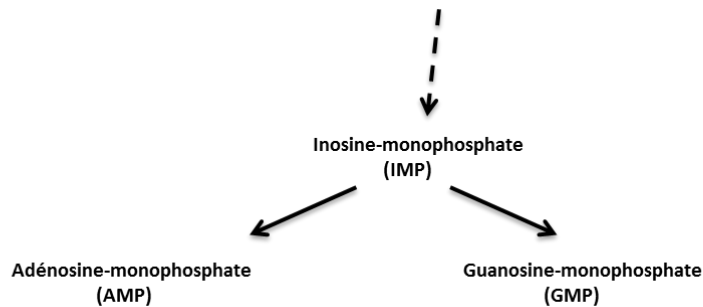
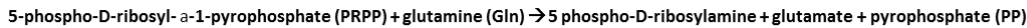
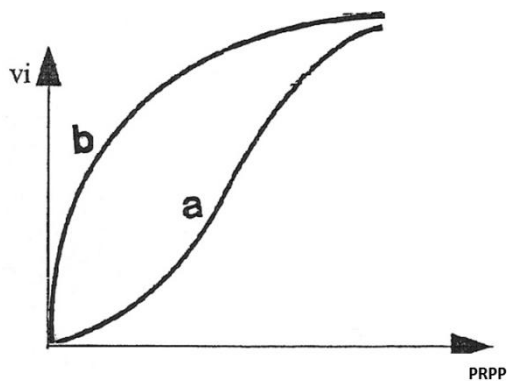


La glutamine-phosphoribosylpyrophosphate-aminotransférase (GPAT) catalyse la première étape de la synthèse des nucléotides puriques :



En présence d'un excès de glutamine, l'activité de la GAPT native est donnée par la courbe a, après chauffage on obtient la courbe b



Question 1 : Commenter la figure que peut-on dire de l'enzyme GAPT et de l'effet du chauffage.

Après chauffage, des déterminations d'activité enzymatique sont réalisées, dans des conditions bien définies, en présence de différentes concentrations de PRPP, dans le but d'établir les constantes catalytiques de la GAPT vis-à-vis de ce substrat. Les résultats obtenus sont analysés par linéarisation selon la représentation en doubles inverses de Lineweaver-Burk. L'équation obtenue est la suivante :  $y = 0,050 x + 0,200$  avec  $y = 1/v_0$  ( $v_0 =$  activité enzymatique en  $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ ) et  $x = 1/S$  ( $S =$  concentration en PRPP en  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

Question 2 :

a) A partir de l'équation de Michaelis-Menten, écrire les étapes de transformation permettant d'établir l'équation de Lineweaver-Burk (sans valeur numérique).

b) Déterminer la vitesse maximale correspondant à la concentration de GAPT dans le milieu réactionnel.

c) Déterminer (dans ces conditions opératoires) le  $K_m$  de la GAPT pour le PRPP.

La même série d'expériences est réalisée en présence d'AMP ajouté au milieu réactionnel à la concentration de  $1\text{mmol/L}$ . On obtient alors l'équation suivante  $y = 0,080 x + 0,200$

### Question 3

a) Déterminer, en justifiant votre réponse, le type d'inhibition exercé par l'AMP sur l'activité GAPT.

b) Calculer la constante d'inhibition  $K_i$  de l'AMP pour la GAPT.

Q1 l'enzyme native est allostérique elle possède une structures quaternaire et plusieurs sous unité de nature et nombre indéterminé.

Le chauffage induit une dénaturation de l'enzyme la courbe b correspondà l'activité de la sous unité catalytique (monomère) qui a une cinétique michaellienne.

Q2

a)  $V_o = V_m \cdot \frac{[S]}{K_m + [S]}$  on inverse equation :  $1/V_o = \frac{K_m + [S]}{V_m \cdot [S]}$  d'où  $1/V_o = 1/V_m + K_m/V_m \cdot (1/[S])$

$y = 1/V_o$  et  $x = 1/[S]$   $y = K_m/V_m \cdot x + 1/V_m$

b)  $0.2 = 1/V_m \rightarrow V_m = 5 \mu\text{mol/L/min}$

c) Pour  $y=0$ ,  $x = -1/K_m \rightarrow 0 = 0.05(-1/K_m) + 0.2$   $1/K_m = 4 \rightarrow K_m = 0,250 \text{ mM}$

Q3

a) AMP n'affecte pas la  $V_{max}$  apparente, le  $K_m$  apparent = 0.4 mM est supérieur au  $K_m$  donc l'AMP se comporte comme un inhibiteur compétitif vis-à-vis du PRPPS pour la GAPT

b)  $K_m \text{ app} = K_m \cdot (1 + [I]/K_i)$   
 $0,4 = 0,25 (1 + 1/K_i) \rightarrow K_i = 1,67 \text{ mM}$