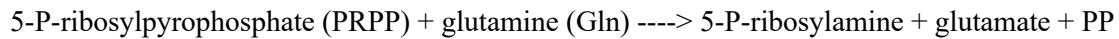
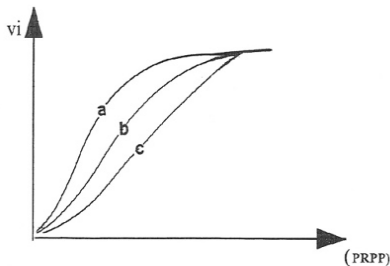


La glutamine-phosphoribosylpyrophosphate-aminotransférase (GPAT) catalyse la réaction suivante :



L'étude cinétique de la GPAT est entreprise en faisant varier la concentration de PRPP à concentration de glutamine constante (et en excès), en l'absence ou en présence d'AMP.

On obtient les courbes suivantes :



- a) : [AMP] = 0
- b) : [AMP] = 1,5 mM
- c) : [AMP] = 3 mM

Question 1

- Pourquoi s'est-on placé à concentration constante et en excès de glutamine ?

2 substrats = PRPP et glutamine (1 point) ; si Gln en excès, facteur limitant de la réaction = PRPP ; pour étudier spécifiquement le comportement de l'enzyme à l'égard du PRPP (1 point).

Question 2

- Comment se comporte la GPAT à l'égard du PRPP ? Justifiez votre réponse

Sigmoïdes (1 point) → Comportement allostérique (1 point) – La vitesse initiale augmente fortement à partir d'une certaine concentration de PRPP (substrat étudié ici). (+ 1 point bonus)

Question 3

Comment se comporte ici l'AMP ? Justifiez votre réponse

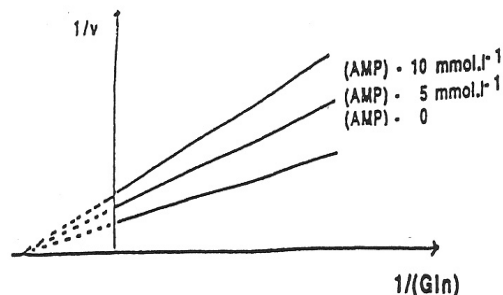
Effet inhibiteur de la réaction (1 point). Pour une même concentration en substrat, la vitesse initiale est plus faible en présence d'AMP qu'en son absence. Et inhibition augmente avec la concentration d'AMP (+ 1 point bonus).

Question 4

- Sachant que l'AMP est un des produits finaux de la voie métabolique initiée par la GPAT, quelle est la conséquence de l'effet observé de l'AMP ?

Effet de feedback ou rétrocontrôle négatif (1 point)

Dans une nouvelle expérience, on fait maintenant varier la concentration de glutamine (Gln), à concentration de PRPP constante (et en excès), en l'absence ou en présence d'AMP. On obtient les droites suivantes :



Question 5 :

- Comment se comporte la GPAT à l'égard de la **glutamine** ? Justifiez votre réponse

Droites (1 point) → comportement Michaelien (1 point)

Question 6 :

- Comment se comporte ici l'AMP ? Justifiez votre réponse

Mêmes Km apparents (1 point), Vmax apparentes différentes (et plus faibles) (1 point) → inhibiteur non compétitif (1 point). (+ 1 point bonus si « apparent » ou « mesurés »)

Question 7 :

- Sachant que le K_i de l'AMP = 3 mmol.L⁻¹ dans les conditions expérimentales définies ci-dessus, calculez le % d'inhibition pour [AMP] = 10 mmol.L⁻¹

Pour un INC, %inh = $[I]/(K_i + [I])$ (2 points) = 10/13 = 76.9 % (1 point)

Dans la seconde expérience, pour $[Gln] = 50 \text{ mM}$ et $[AMP] = 0$, la vitesse initiale a été mesurée à 3 mmoles par minute et par litre.

Question 8 :

- Sachant que le K_m du couple GPAT/Gln = 4 mM, cette vitesse initiale correspond à quel % de la V_{max} ? *Remarque : la valeur de K_m indiquée ici ne correspond pas à la valeur réelle.*

$$[Gln] = 50/4 = 12,5 \text{ Km (1 point)} \rightarrow V_i = (12.5/13.5) \times V_{max} = 0.926 V_{max} = 92.6\% \text{ de la } V_{max} \text{ (1 point)}$$

Question 9 :

- Dans ces conditions, déterminez la concentration catalytique (en U/L et en millikatal/L) de la GPAT dans le milieu réactionnel.

$$V_i = 3 \text{ mM} \cdot \text{min}^{-1} \rightarrow CC = 3000 \text{ U/L (1 point)} = 0,05 \text{ mKat/L (1 point)}$$

Question 10 :

Sachant que cette concentration a été déterminée après ajout de 80 μL de solution enzymatique à 950 μL de réactifs (tampon réactionnel contenant du PRPP en excès + solution de Gln 50 mM), déterminez la concentration catalytique (en U/L) de la solution initiale de GPAT.

$$\text{Dilution} = 12.875 \text{ (1 point)} \rightarrow CC \text{ initiale} = 38625 \text{ U/L (1 point)}$$

Note sur 20 X 2