

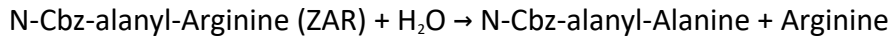
## INTERROGATION ORALE

### Cinétique d'une carboxypeptidase d'une archée hyperthermophile extrême

En s'appuyant sur les documents ci-dessous, présenter les caractéristiques cinétiques de la PfuCP (CarboxyPeptidase de *Pyrococcus furiosus*) ainsi que l'influence de la température sur celle-ci.

Document n°1 : Comportement michaélien de la PfuCP

Le substrat utilisé est le dipeptide N-bloqué N-Cbz-alanyl-Arginine (ZAR) :

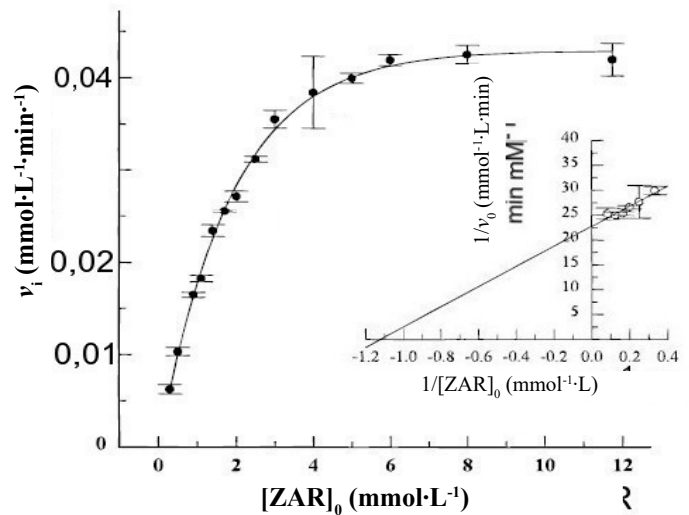


La réaction se fait sous un volume de 100  $\mu\text{L}$  avec un échantillon d'enzyme de 4  $\mu\text{L}$ .

Le mélange est incubé 10 minutes à 80°C puis refroidi sur glace (le temps d'équilibration des températures sera considéré comme négligeable).

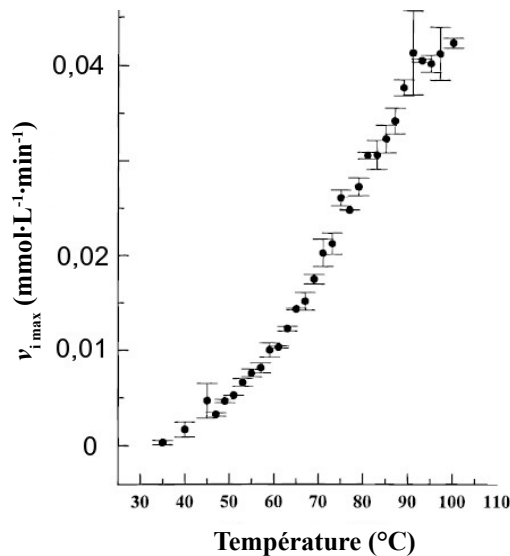
L'arginine libérée est alors dosée avec de la ninhydrine.

L'expérience est reconduite pour différentes concentrations initiales en substrat ZAR.



Document n°2 : PfuCP et température

Différentes cinétiques sont conduites à partir d'un même extrait conservé à -20°C comme indiqué dans le document n°1 mais la concentration initiale en substrat ZAR est fixée à 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  et la température de réaction est variable.



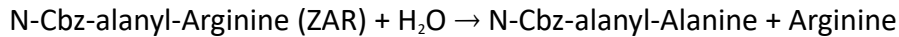
## INTERROGATION ORALE

### Cinétique d'une carboxypeptidase d'une archée hyperthermophile extrême

En s'appuyant sur les documents ci-dessous, présenter les caractéristiques cinétiques de la PfuCP (CarboxyPeptidase de *Pyrococcus furiosus*) ainsi que l'influence de la température sur celle-ci.

Document n°1 : Comportement michaélien de la PfuCP

Le substrat utilisé est le dipeptide N-bloqué N-Cbz-alanyl-Arginine (ZAR) :

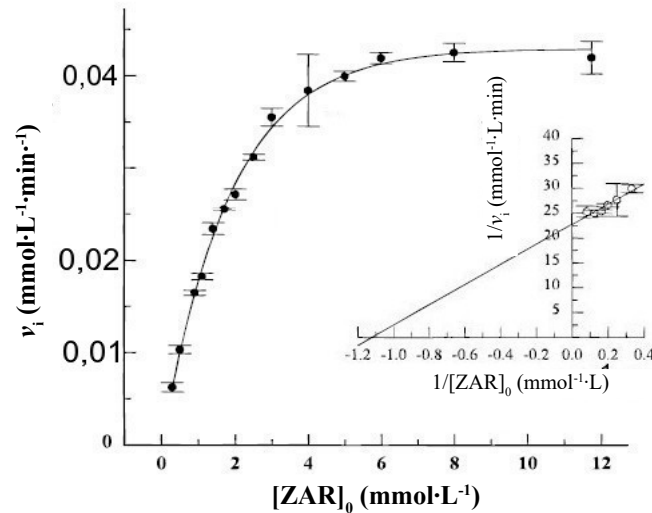


La réaction se fait sous un volume final de 100  $\mu\text{L}$  avec un échantillon d'enzyme de 4  $\mu\text{L}$ .

Le mélange est incubé 10 minutes à 80°C puis refroidi sur glace (le temps d'équilibration des températures sera considéré comme négligeable).

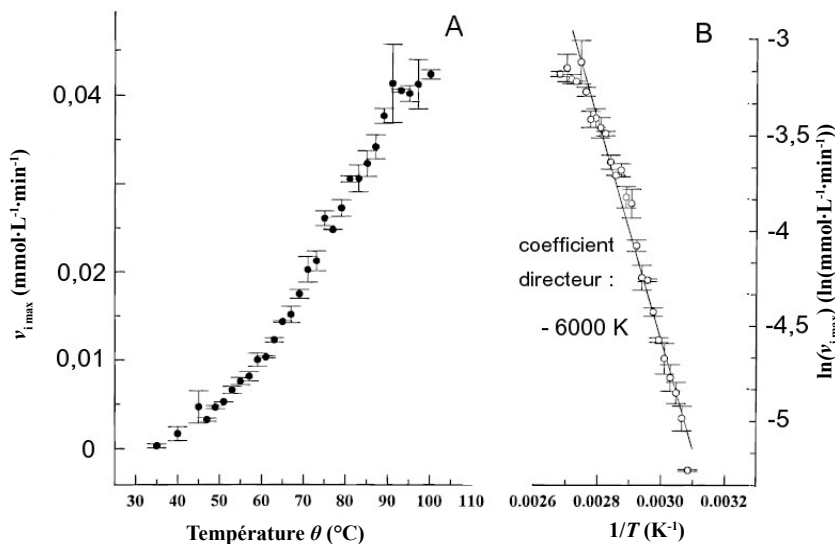
L'arginine libérée est alors dosée avec de la ninhydrine.

L'expérience est reconduite pour différentes concentrations initiales en substrat  $[\text{ZAR}]_0$ .



Document n°2 : PfuCP et température

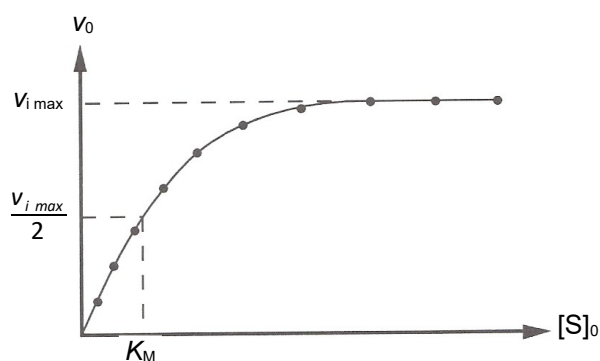
Différentes cinétiques sont conduites à partir d'un même extrait conservé à -20°C comme indiqué dans le document n°1 mais la concentration initiale en substrat  $[\text{ZAR}]_0$  est fixée à 5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  et la température de réaction est variable.



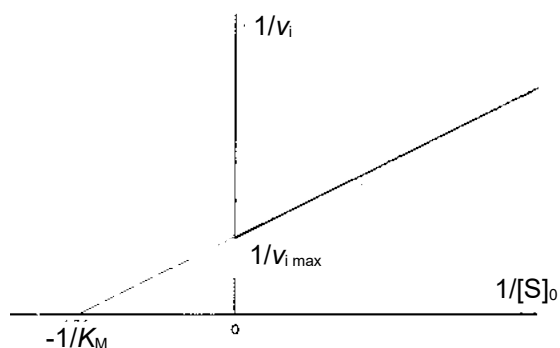
**INTERROGATION ORALE****Le modèle de MICHAÉLIS-MENTEN**

Présenter les caractéristiques cinétiques d'une enzyme michaélienne en s'appuyant sur les documents ci-dessous sans s'y limiter.

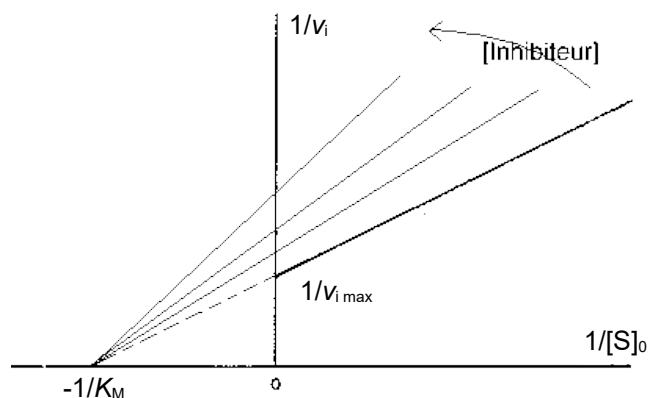
Document n°1 : Courbe de saturation d'une enzyme michaélienne



Document n°2 : Modélisation affine de LINEWEAVER-BURK



Document n°3 : Exemple de régulation d'une enzyme michaélienne

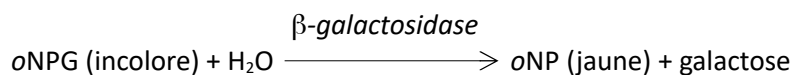


## INTERROGATION ORALE

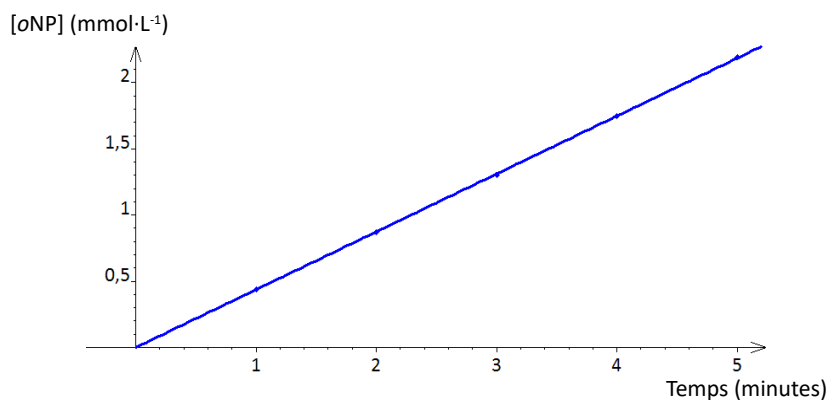
### Représentations graphiques en enzymologie

À partir de l'étude des documents ci-après issus de l'étude de la  $\beta$ -galactosidase, indiquer comment obtenir les différentes représentations graphiques et les informations apportées par celles-ci.

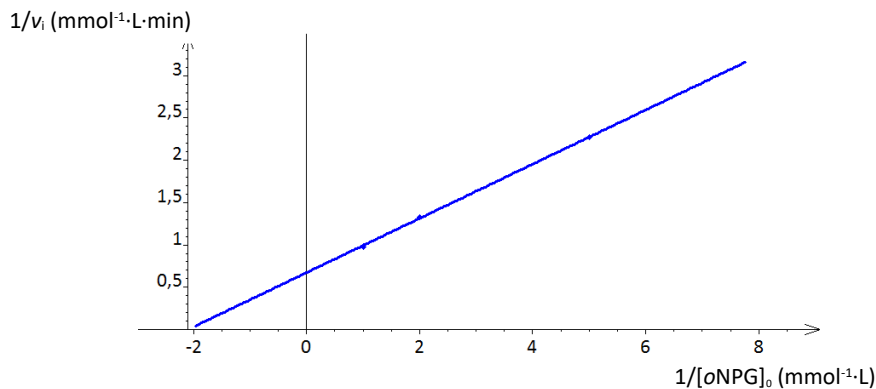
Document n°1 : Réaction catalysée par la  $\beta$ -galactosidase.



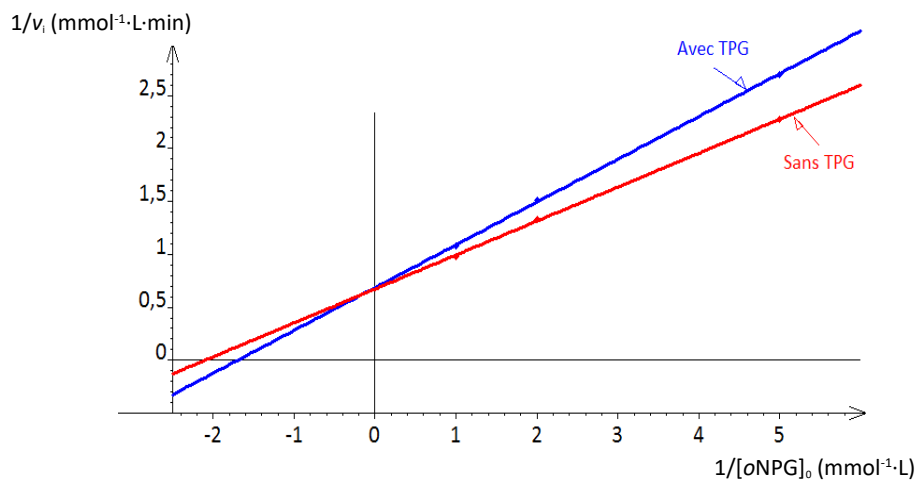
Document n°2 :



Document n°3 :



Document n°4 :



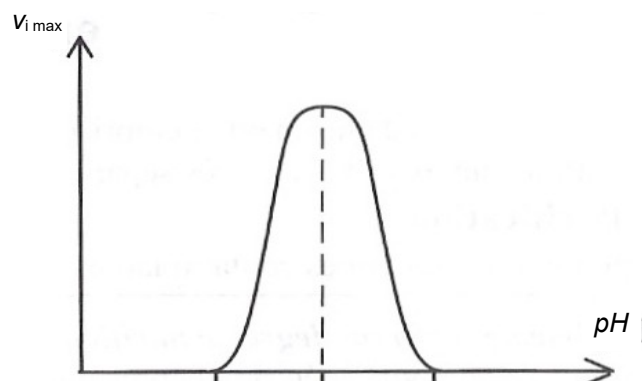
**oNPG** : ortho-nitro-phényl- $\beta$ -D-galactoside

**TPG** : thio-phényl- $\beta$ -D-galactoside

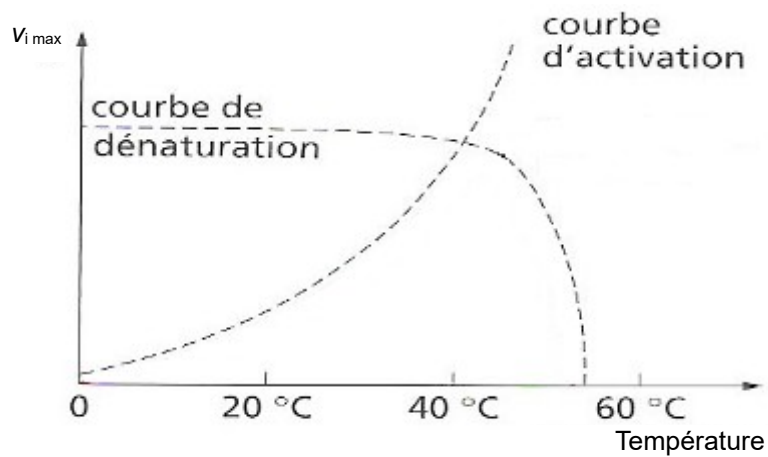
**INTERROGATION ORALE****Les effecteurs physico-chimiques de l'activité enzymatique**

Présenter les conditions d'étude et les effets de deux effecteurs physico-chimiques (*pH* et température) sur l'activité enzymatique. Insister sur les effets au niveau moléculaire.

Document n°1 : Influence du *pH* sur  $v_{i\max}$ .

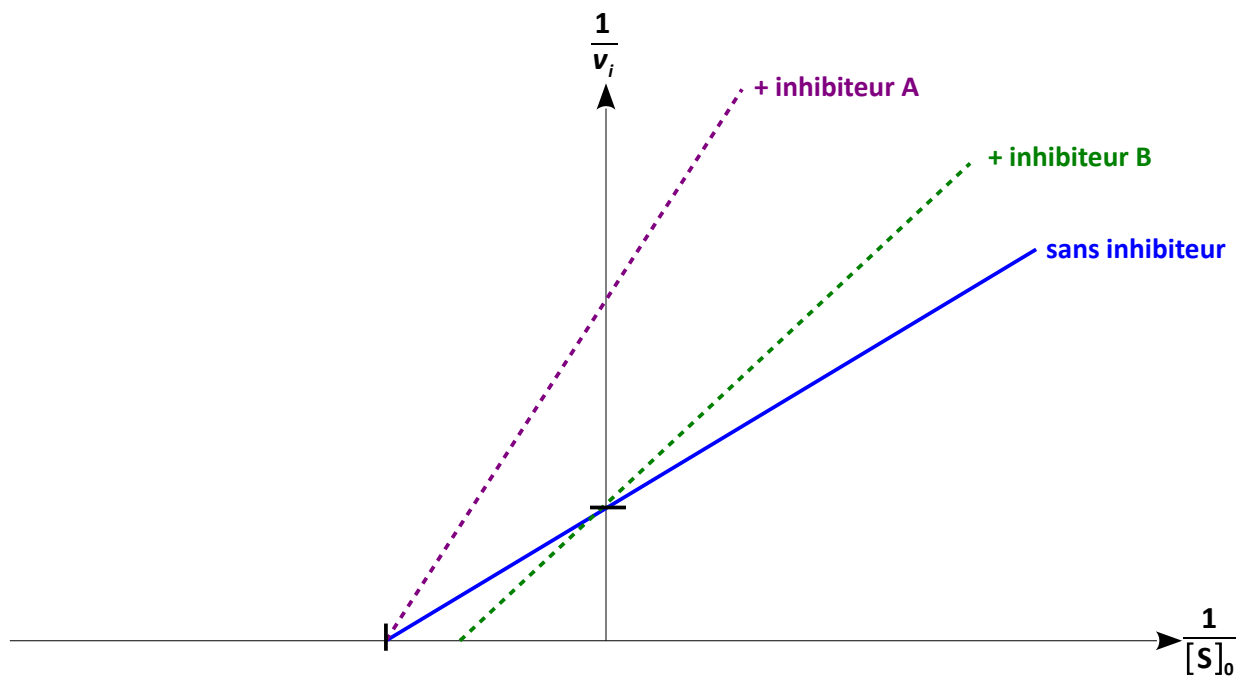


Document n°2 : Influence de la température sur  $v_{i\max}$ .



**INTERROGATION ORALE****Les inhibiteurs réversibles de l'activité enzymatique**

Après avoir rappeler la définition d'un inhibiteur réversible, présenter les différents inhibiteurs réversibles (mode d'action, conséquences sur les paramètres cinétiques de l'enzyme).



## INTERROGATION ORALE

### **Inhibition compétitive de l'activité enzymatique**

Présenter le mode d'action d'un inhibiteur compétitif d'une enzyme michaelienne ainsi que l'évolution des paramètres cinétiques en sa présence.

## INTERROGATION ORALE

### **Inhibition non compétitive de l'activité enzymatique**

Présenter le mode d'action d'un inhibiteur non compétitif d'une enzyme michaelienne ainsi que l'évolution des paramètres cinétiques en sa présence.



## INTERROGATION ORALE

### Enzyme et température

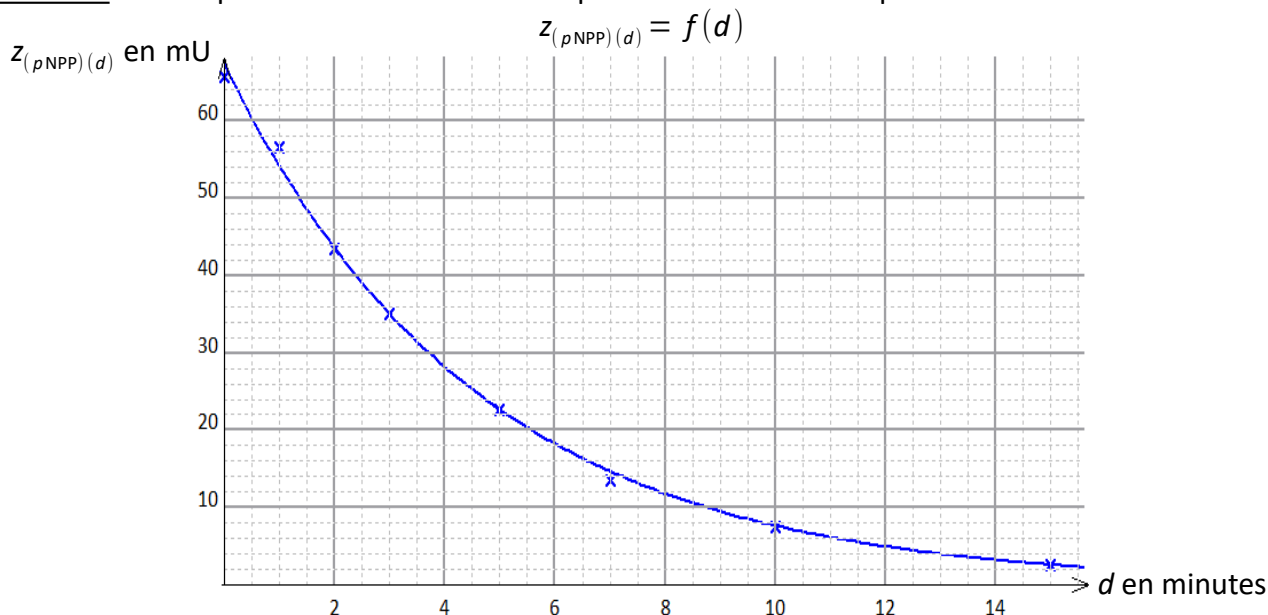
À partir d'une courbe représentant la  $v_{i \max}$  en fonction de la température, expliquer l'effet de la température sur une enzyme et le mode de détermination de l'énergie d'activation  $E_a$  de la réaction enzymatique.

## INTERROGATION ORALE

### Étude de la dénaturation thermique d'une enzyme

Présenter la manipulation permettant d'étudier la dénaturation thermique d'une enzyme soumise, puis préciser comment déterminer la constante de vitesse de dénaturation  $k_D$  et le temps de demi-vie.

Document n°1 : Cinétique de dénaturation thermique de la PAL à une température dénaturante



Document n°2 : Détermination de la constante de vitesse de la dénaturation thermique  $k_D$  de la PAL

