

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

Faculté de Pharmacie
Institut des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques

LABORATOIRE PHARMACEUTIQUE DE BIOCHIMIE

8, avenue Rockefeller - 69373 LYON Cedex 08
Tél. 78.77.70.72

Professeur Jean GRAS

Deuxième Année de Pharmacie

PREMIERE SESSION

EPREUVE DE BIOCHIMIE GENERALE

Lundi 25 janvier 1993 - Durée : 1 heure 30

QUESTION I (3 points) :

Exposez comment la nature des liaisons chimiques entre une protéine enzymatique et son substrat permet d'expliquer la spécificité d'un catalyseur enzymatique.

QUESTION II (5 points) :

Transformez l'équation de MICHAELIS-MENTEN

de la forme algébrique $y = \frac{ax}{b + x}$

en une forme $y = - ax + b$

en précisant, dans les 2 cas, la signification des variables x et y et des constantes a et b .

QUESTION III (5 points) :

Décrivez à l'aide de schémas commentés, deux cas particuliers d'inhibition enzymatique.

- L'inhibition par excès de substrat
- L'inhibition allostérique

Tournez S.V.P.

QUESTION IV (8 points) :

L'Histidine, la Thréonine et la Glycine sont des acides aminés glucoformateurs. Indiquez les voies métaboliques qui permettent à ces trois composés de rejoindre les éléments du métabolisme glucidique.

N.B. : Ces voies métaboliques devront être représentées en **écriture chimique** et non pas seulement de manière littéraire.

QUESTION V (9 points) :

L'Uréogénèse selon KREBS et HENSELEIT

- 1) Equations générales (en donnant la **structure chimique** des molécules réagissantes)
- 2) Description détaillée de la 1ère étape
- 3) Bilan énergétique de cette opération.

INTERROGATION ECRITE : Durée 40 minutes

Remarques

- * La consultation de documents et la communication entre étudiants sont interdites et entraîneront l'annulation de la copie.
- * Indiquer le raisonnement permettant d'arriver au résultat final.
- * Faire figurer le détail des calculs. Une réponse exacte sans explication sera considérée comme nulle.
- * Pas de résultats raturés ou surchargés. En cas d'erreur, recommencer entièrement la rédaction.

**Exercice portant sur l'hydrolyse du phosphate de phénolphtaléine (PPP)
par une phosphatase alcaline:**

La vitesse de réaction est mesurée par le dosage de la phénolphtaléine apparue; elle est exprimée $\mu\text{mol/l/min}$.

Dans le milieu A préparé ainsi:

- Solution tamponnée de PPP à 10 mmol/l: 4,20 ml
- Préparation enzymatique: 0,80 ml

la vitesse de réaction est de 11,077 $\mu\text{mol/l/min}$

Dans le milieu B préparé ainsi:

- Solution tamponnée de PPP à 10 mmol/l: 1,05 ml
- Solution tampon: 3,15 ml
- Préparation enzymatique: 0,80 ml

la vitesse de réaction est de 9,00 $\mu\text{mol/l/min}$

I) Calculer les concentrations en PPP dans les milieux A et B (3 points)

II) Calculer la constante de Michaelis de cette phosphatase en précisant les unités employées (6 points)

III) Calculer la vitesse maximum de la réaction et en déduire l'activité de la préparation enzymatique exprimée en $\mu\text{kat/l}$ (7 points)

IV) Calculer la quantité de PPP qu'il faut peser en vue de préparer 50 ml d'une solution à 10 mmol/l (4 points)

On donne:

- Formule brute de la PPP: $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{O}_7\text{P}$
- Masse atomique de P: 31
- 1 μkat : quantité de phosphatase hydrolysant 1 μmol de PPP par seconde

INTERROGATION ECRITE : Durée 40 minutes

Remarques

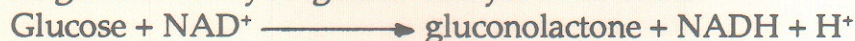
- * La consultation de documents et la communication entre étudiants sont interdites et entraîneront l'annulation de la copie.
- * Indiquer le raisonnement permettant d'arriver au résultat final.
- * Faire figurer le détail des calculs. Une réponse exacte sans explication sera considérée comme nulle.
- * Pas de résultats raturés ou surchargés. En cas d'erreur, recommencer entièrement la rédaction.

QUESTION I (5 points)

Quel est le volume de solution de soude à 10 grammes par litre nécessaire pour neutraliser 10 millilitres d'une solution de glyco-colle à 45 grammes par litre (après traitement par le formol) ?

QUESTION II (5 points)

La glucose-deshydrogénase catalyse la réaction:



Quelle sera l'absorbance d'un milieu où ont été mélangées:

- solution de glucose à 90 milligrammes par litre:.....0,4 millilitre
- solution de glucose-deshydrogénase + NAD⁺:2,6 millilitres

(en supposant que la transformation du glucose soit complète)

L'absorptivité molaire du NAD réduit est de 6 300 litres / mole / cm.

QUESTION III (10 points)

Une enzyme a une constante de Michaelis de 0,5 millimole / litre.

Quelle concentration en substrat faut-il dans le milieu d'incubation pour avoir une vitesse initiale égale à 95% de la vitesse maximum théorique ?

Quelle doit-être la concentration de la solution de substrat sachant que l'incubation se réalise comme suit:

- Solution de substrat:.....5 millilitres
- Milieu initial contenant l'enzyme:....0,1 millilitre

La vitesse mesurée dans ces conditions est de 3,8 micromoles / litre / minute.

Quelle sera la vitesse initiale pour une concentration en substrat dans le milieu d'incubation de 1,5 millimole / litre ?

En se servant de la valeur de V_m théorique, calculer l'activité de l'enzyme dans le milieu initial en l'exprimant en microkatal / litre.

(1 microkatal est la quantité d'enzyme transformant 1 micromole de substrat par seconde).

INTERROGATION ECRITE : Durée = 40 minutes

Remarques

- La consultation de documents et la communication entre étudiants sont interdites et entraîneront l'annulation de la copie.
- Indiquer le raisonnement permettant d'arriver au résultat final.
- Faire figurer le détail des calculs. Une réponse exacte sans aucune explication sera considérée comme nulle.
- Pas de résultats raturés ou surchargés. En cas d'erreur, recommencer entièrement la rédaction.

EXERCICE I (6 points)

- Une solution alcaline de phénol-phtaléine à 5 mg/l a une absorbance de 0,49 (à 545 nanomètres, trajet optique de 1 cm).
- Calculer le coefficient d'extinction molaire (absorptivité) de la phénol-phtaléine sachant que sa masse molaire est de 318.
- Préciser avec quelles unités s'exprime l'absorptivité.
- A quel pourcentage de transmission correspond une absorbance de 0,49 ?

EXERCICE II (6 points)

- Pour déterminer la teneur en invertase d'une poudre, on prépare la solution suivante :
 - poudre : 50 mg
 - tampon acétate pH 4,6 qsp. 10 ml
- Puis on prépare le milieu d'incubation suivant :
 - solution de saccharose à 40 g/l : 10 ml
 - solution enzymatique : 1 ml
- La concentration en glucose formé dans ce milieu d'incubation au bout de 5 minutes est de 0,74 mmol/l.
- D'autre part, on dose les protéines présentes dans le milieu d'incubation par spectrophotométrie à 280 nanomètres : la concentration dans le milieu d'incubation est de 320 mg/l.
- Quelle est, exprimée en pourcentage, la teneur en protéine de la poudre ?
- Exprimer l'activité de l'invertase en unités internationales par gramme de protéine (1 U.I. est la quantité d'invertase hydrolysant 1 micromole de saccharose par minute)

EXERCICE III (4 points)

- Une phosphatase alcaline a un Km de 0,5 mmol/l.
- Pour une concentration initiale en substrat de 3 mmol/l, la vitesse de réaction est de 1,2 micromol/l/min. Quelle serait la vitesse correspondant à une concentration initiale en substrat de 1,5 mmol/l.

EXERCICE IV (4 points)

- A 20 ml d'une solution de glycolle, on ajoute 10 ml de formol neutralisé et on titre par la soude : il faut ajouter 12 ml de soude 0,4N pour obtenir le virage de la phénol-phtaléine :
- Quelle est, exprimée en g/l, la concentration en glycolle de cette solution.