

**ÉPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION****Exercice 4 (40 points)****ÉNONCÉ**

On veut déterminer la constante de Michaelis  $K_M$  et la vitesse maximale  $V_{\max}$  d'une préparation purifiée **A** de glucose-6-phosphatase (EC 3.1.3.9) contenant  $8 \text{ mg.L}^{-1}$  de protéines totales. Dans ce but quatre cinétiques sont effectuées sur un mélange **B** réalisé à partir de  $50 \text{ }\mu\text{L}$  de A et de  $450 \text{ }\mu\text{L}$  d'un tampon contenant des concentrations variables de glucose-6-phosphate. La vitesse initiale  $V_0$  est exprimée par la concentration en glucose libéré par unité de temps. Les concentrations en substrat et les vitesses initiales mesurées dans chaque mélange sont reportées dans le tableau ci-dessous.

S ( $\mu\text{mol.mL}^{-1}$ )	$V_0$ ( $\mu\text{mol.mL}^{-1}.\text{min}^{-1}$ )
1,25	1,52
2,5	2,32
5	3,28
10	4

**QUESTION N° 1 :**

Quels sont chez l'Homme, le rôle métabolique de la glucose-6-phosphatase et les localisations tissulaires de l'enzyme ?

**QUESTION N° 2 :**

a) Déterminer par une représentation graphique linéaire (Lineweaver-Burk ou Eadie-Hofstee)  $K_M$  et  $V_{\max}$  dans le mélange B en précisant les unités des axes des abscisses et des ordonnées ainsi que les expressions des intersections avec les axes des x et des y. Les concentrations seront exprimées par mL et les temps en min.

b) Quelles seraient les valeurs de  $K_M$  et  $V_{\max}$  mesurées directement dans une préparation purifiée **A'** obtenue à partir de A diluée au demi ?

**QUESTION N° 3 :**

La concentration cellulaire en glucose-6-phosphate est d'environ  $0,2 \text{ mM}$ . Quel serait le pourcentage des sites actifs de l'enzyme occupés par le glucose-6-phosphate (on suppose que l'on est dans des conditions de vitesse initiale) ?

**QUESTION N° 4 :**

Le phosphate est un inhibiteur compétitif de l'enzyme. Quelles seraient les valeurs attendues pour  $K_M$  et  $V_{\max}$  dans le mélange **B** de l'énoncé contenant une concentration finale en phosphate égale à  $3 K_i$  ?