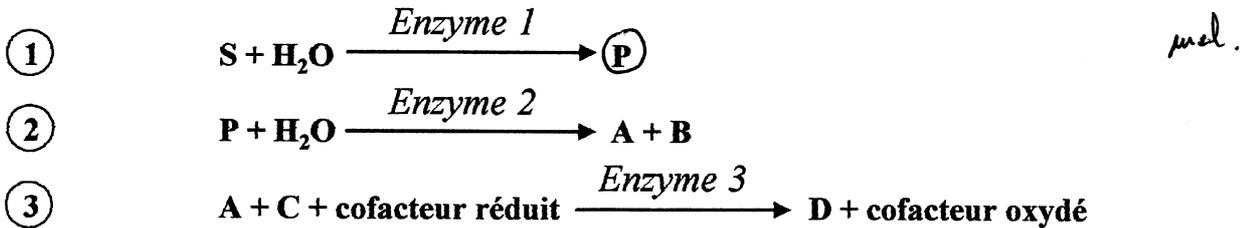


VALIDATION TP BIOCHIMIE (1^{ère} session)
3^{ème} ANNEE DE PHARMACIE
2006-2007
19 Décembre 2007

1. Donner la classification des enzymes suivant le mode de réaction qu'elles catalysent.
2. Donner les réactions enzymatiques mises en jeu selon le principe utilisé en travaux pratiques pour la séparation électrophorétique des isoenzymes de la LDH.
3. Citer le nom de la réaction générale utilisée en travaux pratiques pour déterminer l'activité de l'arginase hépatique.
4. Donner le principe du fractionnement des protéines sériques par électrophorèse sur acétate de cellulose.
5. Un insert (fragment d'ADN de 356 pb) est cloné dans un plasmide de 2,8 kb entre les bases 20-21 de ce plasmide (voir schéma, page 3).
Après digestion enzymatique par une enzyme de restriction du type *Pvu II* coupant en position 217 dans l'insert et en position 9, 74 et 1040 dans le plasmide (voir schéma, page 3), donner la technique utilisée pour l'observation après digestion, le nom de l'agent intercalant utilisé, le nombre de fragments d'ADN normalement attendus et leurs tailles exactes en pb.
6. Les réactions enzymatiques mises en jeu lors d'un dosage sont les suivantes :



Le réactif complet à utiliser est constitué de telle manière que la diminution de l'absorbance à 340 nm résultant de l'oxydation du cofacteur est directement proportionnelle à la concentration du produit P dans l'échantillon.

Les tubes expérimentaux de l'étalon et du dosage sont préparés parallèlement et laissés incuber pendant 20 minutes selon la réaction $\textcircled{1}$.

Les résultats expérimentaux obtenus après mélange avec le réactif complet (réactions $\textcircled{2}$ et $\textcircled{3}$) sont ci-dessous :

Tubes	DO		
	25 s	50 s	75 s
Etalon	0,983	0,871	0,833
Dosage	0,714	0,291	0,112

Réactifs :

• réaction enzymatique :

- suspension enzymatique : broyat 15g
tampon qsp ½ litre

30g/L.
0,03 / ml

• dosage de P :

- solution étalon : $\frac{80 \text{ mg}}{200 \text{ ml}}$ μs
- masse moléculaire de l'étalon = 90

80 mg → 200 ml
400 mg - L. 1000 ml.
04 g/L.

Calculer l'activité enzymatique de l'Enzyme 1 en UI/ml de suspension enzymatique et en kat/g de broyat.

$18,9 \cdot 10^{19}$

0,8

0,1 / ml

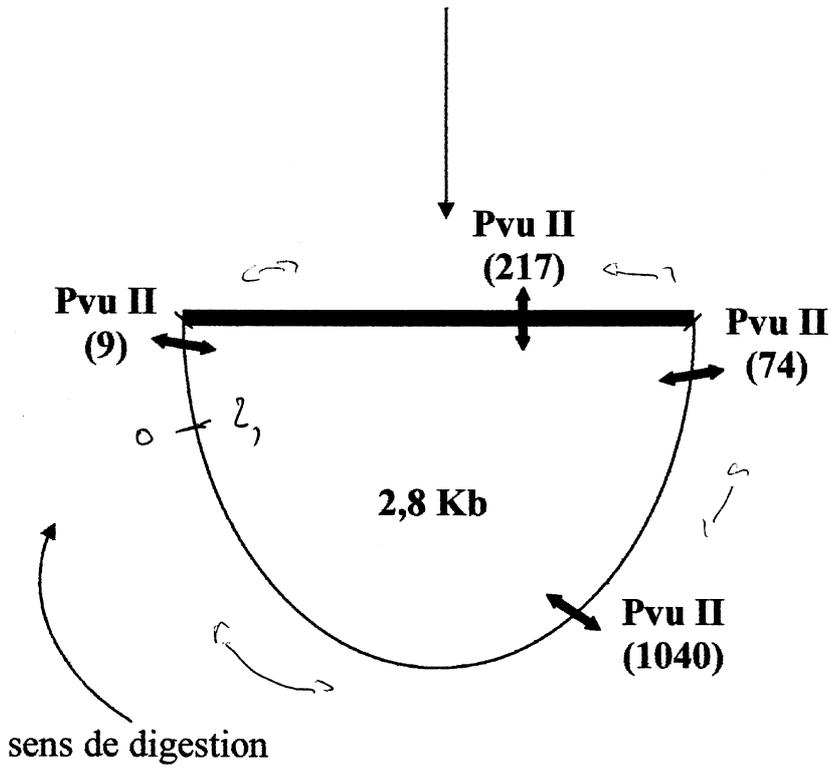
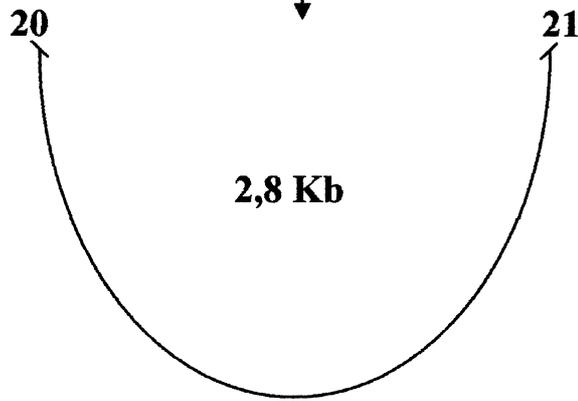
0,03 g / ml

1g

0 356

insert de 356 pb

Ligation dans un plasmide de 2,8 Kb



g+ (2800 - 1040)

355

2517