

Module : Méthodes d'analyses et de dosages en Biologie

Série d'exercices N°3 : Dosage enzymatique

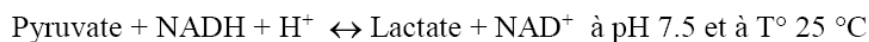
Exercice N°1 :

Pour mesurer l'activité d'une enzyme, on mesure l'absorbance à 340 nm en fonction du temps, dans une cuve de 1 cm de trajet optique, de 1 ml de solution contenant l'enzyme et le substrat dont le coefficient d'extinction molaire est de $6000 \text{ L.mole}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à 340 nm. L'enzyme provient de 100 μl de sérum auquel on additionne 900 μl d'une solution de substrat.

1. Définir l'activité catalytique d'une enzyme en UI et en katal ?
2. Sachant que la variation d'absorbance est de 360 /min, calculer l'activité de cette enzyme en katal ?

Exercice N°2 :

Le dosage de la LDH sérique permet de mettre en évidence des lésions du muscle cardiaque et du foie. Elle catalyse la réaction suivante :



On introduit dans la cuve en quartz d'un spectrophotomètre :

- 2.8 ml d'une solution de NADH à pH 7.5 et à $T^\circ = 25 \text{ }^\circ\text{C}$
- 0.1 ml de sérum
- 0.1 ml de Pyruvate

On mélange rapidement et on place la cuve dans le compartiment thermostaté du spectrophotomètre. Les résultats de mesure de l'absorbance en fonction du temps sont :

Temps (s)	0	30	60	90	120
Absorbance	0.56	0.54	0.52	0.50	0.48

- 1) A quel groupe d'enzyme appartient la LDH ?
- 2) justifier
 - l'utilisation d'une cuve en quartz
 - l'utilisation d'un compartiment thermostaté à 25 ° C.
 - l'emploi d'une solution tamponnée.
- 3) Calculer l'activité enzymatique de la LDH du sérum sachant que son expression est en UI par litre et que le coefficient d'absorbance molaire (ϵ) est de $6.3 \cdot 10^3 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.