

Question 3 (10 points) : L'acétylcholinestérase est une enzyme catalysant l'hydrolyse :



La détermination de son activité catalytique peut se faire de la façon suivante : un volume de solution d'enzymes contenant x mg de protéine est ajouté à une solution d'acétylcholine (en excès). On amène le pH initial à 7 et la température à 30°C. Le pH a tendance à diminuer à cause de l'acide libéré ; on détermine donc le volume V en cm³ de solution d'hydroxyde de sodium exactement 0,01mol.dm⁻³ nécessaire, par minute, pour maintenir le pH à sa valeur initiale. On compare 2 techniques de purification de cette enzyme à partir d'un broyat de tissus animal.

| Fraction | Masse totale de protéines contenues dans la fraction : mg | Masse x utilisé pour l'essai : mg | Volume V mesurée lors de l'essai : cm ³ NaOH (0,01mol.dm ³ par min) | Activité catalytique spécifique : U.mg ⁻¹ | Activité catalytique totale : U | Rendement % | Enrichissement |
|---|---|-----------------------------------|---|--|---------------------------------|-------------|----------------|
| 1^{ère} technique : utilisation de procédés classiques | | | | | | | |
| I ₁ : tissus frais homogénéisé on précipite par (NH ₄) ₂ SO ₂ | 120 | 0,1 | 5,20 | | | | |
| II ₁ : fraction I soumise à une chromatographie sur DEAE-cellulose | 14 | 0,01 | 2,30 | | | | |
| III ₁ : concentration et dialyse | 13 | 0,01 | 2,40 | | | | |
| IV ₁ : gel-filtration sur Séphadex G200 | 6,5 | 0,01 | 4,20 | | | | |
| V ₁ : Fraction passé sur DEAE-cellulose | 1,3 | 0,01 | 7,90 | | | | |
| 2^{ème} technique : utilisation de la chromatographie | | | | | | | |
| I ₂ : tissus frais homogénéisé On précipite par (NH ₄) ₂ SO ₂ redissolution du culot | 140 | 0,1 | 4,7 | | | | |
| II ₂ : fraction I ₂ soumise à une chromatographie d'affinité | 4,7 | 0,01 | 9,75 | | | | |

- 1- Compléter numériquement le tableau en faisant figurer pour chaque fraction :
 - L'activité catalytique spécifique en U.mg⁻¹
 - L'activité catalytique totale de la fraction ;
 - Le rendement (pourcentage de récupération de l'activité par rapport à la première étape) -l'enrichissement (coefficient de purification par rapport à la première étape). N.B : 1 unité U correspond à la quantité d'enzyme qui, dans les conditions du dosage, convertit 1µmol d'acétylcholine par min.
- 2- Comparer les résultats obtenus dans les deux techniques.

