

ANNALES

MAI 2006 - QUESTIONS DE COURS

- 1– Quelle est la (les) différence(s) entre glycine et résidu glycyI ? Écrivez leur formule en faisant ressortir la (les) différence(s).
- 2– Sous quelle forme les acides gras sont-ils stockés dans l'organisme ? Dessinez une molécule caractéristique en indiquant précisément le type de liaison qui s'y trouve.
- 3 - Dessinez une molécule amphiphile en précisant les caractéristiques des différentes parties de la molécule.
- 4 a – Représentez une molécule de galactose sous forme linéaire et sous forme cyclique.
b – Représentez une galactosamine et une N-acétylgalactosamine (sous forme cyclisée)
- 5– Qu'appelle-t-on structure primaire, structure secondaire, structure tertiaire et structure quaternaire d'une protéine ?
 - structure primaire
 - structure secondaire
 - structure tertiaire
 - structure quaternaire

EXERCICE 1

On cherche à déterminer la structure primaire de l'hexapeptide P. Pour chacune des expériences réalisées, il est demandé de rappeler l'action des réactifs utilisés et d'en tirer le maximum de conclusions.

- 1 – Par action courte du réactif d'Edman sur P, on libère un PTH-Thr.
- 2 – L'action brève de la carboxypeptidase libère une leucine.
- 3 - L'étude de la composition en acides aminés de P réalisée après hydrolyse acide donne un mélange équimoléculaire de Méthionine, Leucine, Lysine, Thréonine et Glycine.
- 4 – Par action du bromure de cyanogène, on obtient un dipeptide P1 et un térapeptide P2.
- 5 – L'action de la trypsine sur P1, libère deux acides aminés.
- 6 – L'action de la chymotrypsine sur P2 libère un acide aminé et un tripeptide.
- 7 – Structure primaire de P compatible avec l'ensemble de ces expériences ?

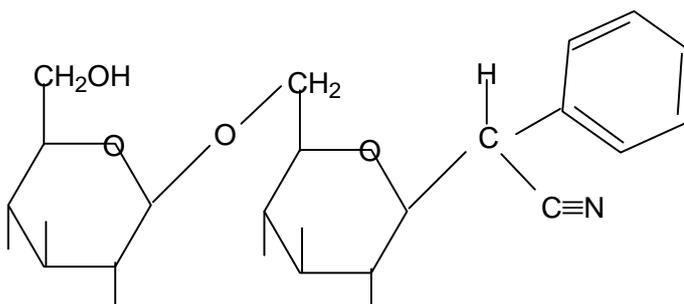
EXERCICE 2

1 - La mesure par spectrophotométrie de l'activité en fonction du temps de la citrate synthase extraite de la pomme de terre, donne une vitesse de 0.2 unités d'absorbance par minute. Sachant que le coefficient d'extinction moléculaire (ϵ_m) du substrat à sa longueur d'onde d'absorption maximale (longueur d'onde à laquelle ont été faites les mesures d'absorption précédemment réalisées) est de $20\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, que le volume de la cuve de spectrophotométrie est de 3 mL et que la longueur du trajet optique est de 1cm, exprimez la vitesse de cette réaction enzymatique en $\mu\text{mol min}^{-1}$ en justifiant vos calculs.

2 - L'ajout, en plus de la citrate synthase et de son substrat, d'une molécule inconnue dans la cuve de réaction réduit par 2 la vitesse maximale (V_{max}) observée, mais ne modifie pas le K_M de l'enzyme pour son substrat. Comment définiriez-vous cette molécule inconnue vis-à-vis de la citrate synthase et de son substrat ? Pourquoi ?

EXERCICE 3

L'amygdaline (formule ci-dessous) est une molécule trouvée dans les amandes amères.



1 - Quelle est la nature de cette molécule ? Quel type d'interaction moléculaire est à l'origine de sa solubilité dans l'eau?

2 - L'émulsine est une enzyme contenue dans la paroi des amandes. Elle catalyse l'hydrolyse de l'amygdaline. Les produits de cette réaction sont l'acide cyanhydrique (HCN), le benzaldéhyde et X. L'acide cyanhydrique est un composé toxique qui altère le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale (il est le responsable de la toxicité des noyaux de fruits). Le benzaldéhyde (C₇H₆O) est la molécule responsable de l'odeur des amandes. Ecrivez les formules développées de l'ensemble des produits d'hydrolyse de l'amygdaline et donnez le nom usuel de X.

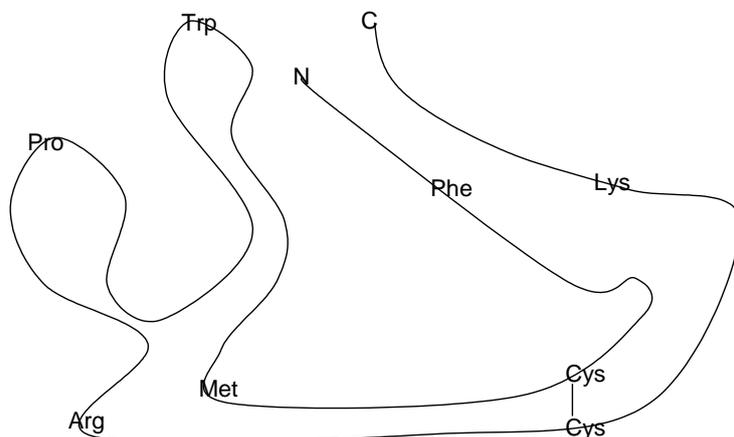
3 - Ecrivez en représentation de Haworth et nommez les deux formes anomériques de X.

JUIN 2006 - QUESTIONS DE COURS

1 - En prenant pour exemple la molécule d'eau et le chlorure de sodium, expliquer la différence entre une liaison polarisée et une liaison ionique.

2 - Les acides aminés sont classés en diverses catégories. Nommer (sans en donner la formule) les acides aminés acides, les acides aminés basiques et les acides aminés aromatiques. Quelle est la caractéristique de chacune des ces 3 catégories.

3 - Soit une protéine représentée par le schéma suivant :



Cocher précisément, sur le schéma, les points d'attaque des enzymes ou réactifs suivants :

- a - trypsine
- b - aminopeptidase
- c - carboxypeptidase
- d - réactif d'Edman
- e - β -mercaptoéthanol.

4 - a - Dessiner à pH 7,00 une molécule d'acide phosphatidique.

b - De quelles molécules l'acide phosphatidique est-il le précurseur ?

c - Où trouve-t-on généralement ces molécules ?

5 - Principe du tamis moléculaire

EXERCICE 1

Le D-apiose ou 3-hydroxyméthyl-D-térose est un ose « atypique » à 5 carbones (C₅H₁₀O₅) entrant dans la composition de nombreux polysaccharides de la paroi cellulaire végétale (on le retrouve essentiellement dans le persil et l'écorce de l'hévéa).

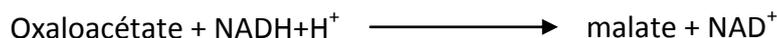
1. La réduction du D-apiose donne un seul produit. Quelle est la nature de cet ose ?

2. Proposez une projection de Fischer pour cette molécule.

3. Ecrire les quatre formes cycliques possibles pour le D-apiose en représentation de Haworth.

EXERCICE 2

La malate déshydrogénase catalyse la réduction de l'oxaloacétate en malate en présence de NADH. La réaction globale peut s'écrire :



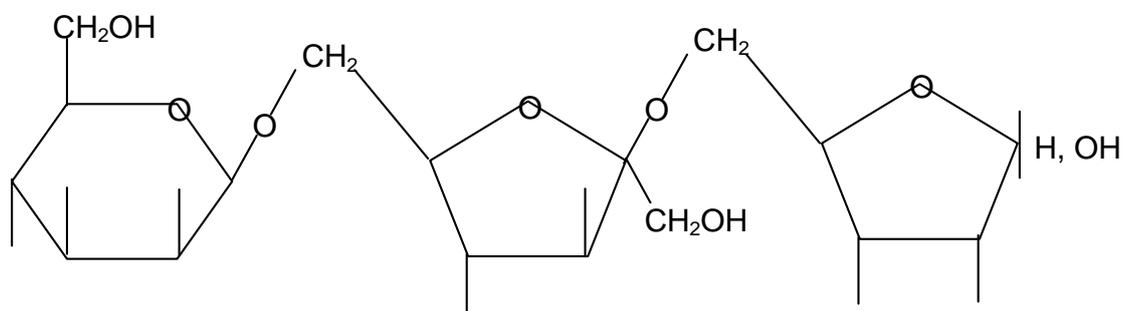
- 1- Quelle expérience doit-on réaliser pour mesurer avec approximation la vitesse maximale (V_{\max}) de la réaction et le K_M de cette enzyme ? Indiquez les unités dans lesquelles sont généralement exprimés ces deux paramètres.
- 2- Dans les conditions de phase stationnaire, donnez l'expression de l'équation de Michaelis-Menten. L'activité de cette enzyme extraite de la pomme de terre a été mesurée en présence de différentes concentrations d'oxaloacétate avec une quantité d'enzyme constante.
- 3- Quel(s) graphique(s) va-t-on pouvoir tracer ? Indiquez sur ce(s) graphique(s) les différentes constantes que vous pouvez déterminer.

MAI 2007 - QUESTIONS DE COURS

- 1 - Après avoir rappelé l'équation de Michaelis-Menten, vous définirez chacun des termes la composant et en donnerez les unités.
- 2 - Soit le peptide P suivant : P = Asp - Leu - Lys - Met - Trp - Cys - Ser - Val
 - 1°) Quelle est la charge globale de ce peptide à pH 7 et à pH 12 ? Justifiez votre réponse en précisant quels sont les résidus d'acides aminés chargés dans les deux cas.
 - 2°) Peut-on détecter ce peptide par une mesure d'absorbance ? Pourquoi ?
 - 3°) Donnez le résultat de l'action des réactifs suivants sur ce peptide ?
 - a) action courte de l'aminopeptidase
 - b) réactif d'Edman (action courte et action prolongée)
 - c) carboxypeptidase
 - d) trypsine
 - e) chymotrypsine
 - f) bromure de cyanogène
- 3 - Certains acides gras possèdent des doubles liaisons. Quelles propriétés sont en relation avec la présence de ces doubles liaisons ?
- 4 - Quelle propriété physicochimique de l'ADN permet de suivre sa dénaturation ? Donner la courbe caractéristique obtenue en indiquant quel paramètre elle permet de mesurer.

EXERCICE 1

Soit le triholoside suivant :



- 1°) Donnez son nom en nomenclature systématique
- 2°) Donnez le nom des produits obtenus par hydrolyse acide de ce triholoside et dessinez-les en représentation de Fischer.
- 3°) Nommez les enzymes capables d'hydrolyser chacune des liaisons de ce triholoside et donnez les produits obtenus dans chacun des cas.

EXERCICE 2 (les différentes questions de cet exercice peuvent être traitées séparément)

1°) L'acide ascorbique absorbe la lumière à plusieurs longueurs d'onde. Son coefficient d'extinction molaire à 265 nm est de $14,9 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

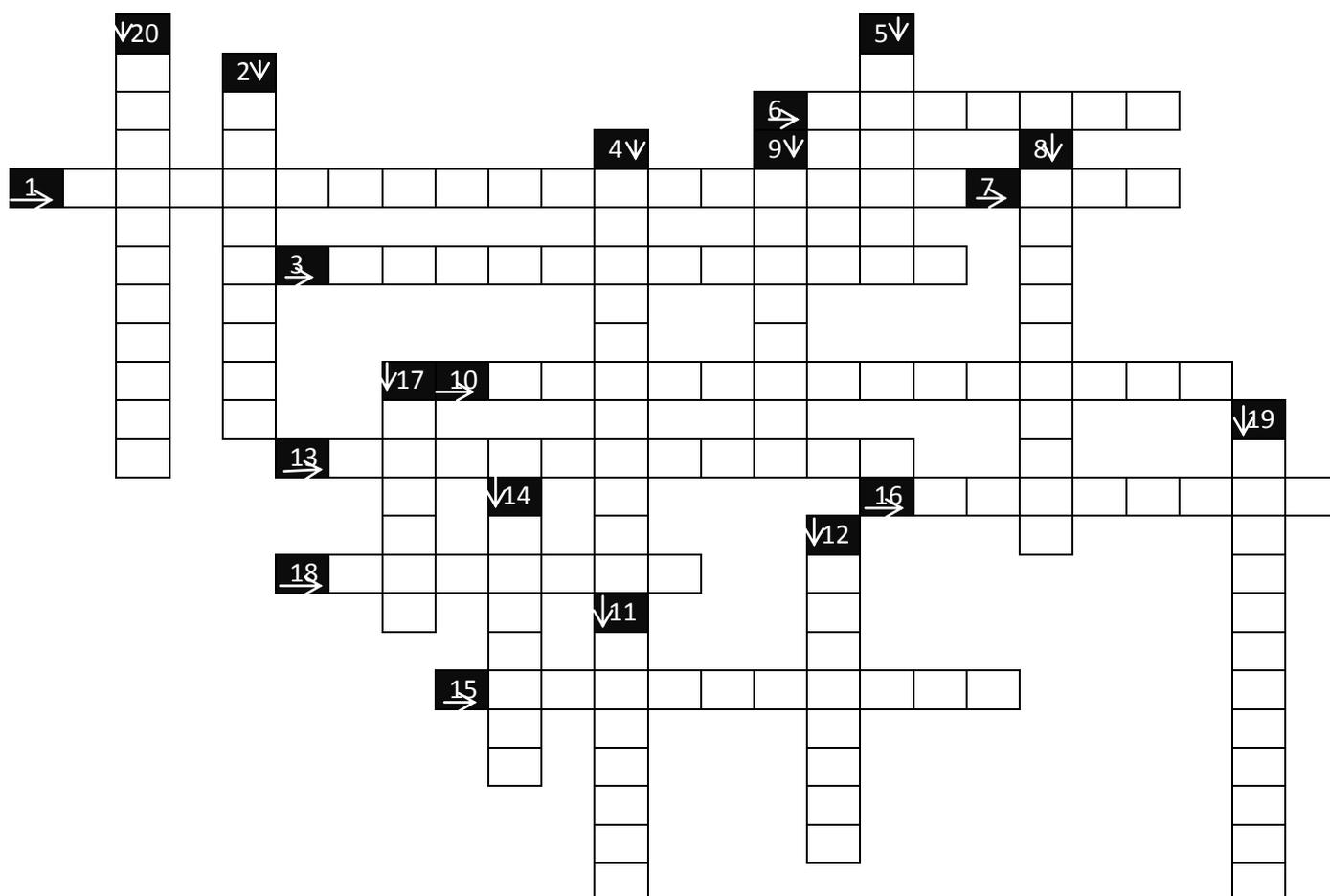
Calculez la concentration molaire en acide ascorbique si la lecture au spectrophotomètre a donné une absorbance de 0,298 (épaisseur de la cuve 1cm)

2°) Vous avez réalisé une gamme étalon permettant grâce à une réaction colorimétrique de relier une concentration en protéine à une absorbance. Vous obtenez les résultats suivants :

Concentration en protéine ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	0	10	20	40	60	80	100
Absorbance à 540 nm	0	0,028	0,055	0,107	0,155	0,210	0,250

Après avoir tracé la droite d'étalonnage, déterminez la concentration en protéine d'un échantillon dont l'absorbance est de 0,133 en sachant que l'échantillon a été dilué 5 fois (1/5) avant de mesurer l'absorbance au spectrophotomètre.

JUIN 2007



- 1 : tendance qu'a un élément à attirer le doublet de liaison vers lui dans sa liaison covalente avec un autre élément
- 2 : c'est aussi la phosphatidylcholine
- 3 : un composant ramifié de l'amidon
- 4 : ces composés sont à la fois hydrophiles et hydrophobes
- 5 : unité de masse moléculaire
- 6 : disaccharide composé de glucose et de galactose
- 7 : molécule stable qui porte notre patrimoine génétique
- 8 : théorie permettant d'expliquer le comportement d'enzyme dont la cinétique n'est pas michaelienne
- 9 : molécule indispensable à un organisme mais ne produisant pas d'énergie
- 10 : réaction permettant la synthèse de savon

- 11 : base hétérocyclique constitutive de l'ADN
- 12 : acide aminé possédant une fonction thiol
- 13 : isomère non superposable à son image dans un miroir
- 14 : acide aminé symbolisé par A
- 15 : molécule pouvant réduire la vitesse de réaction d'une enzyme
- 16 : 2 structures ne différant entre elles que par la configuration spatiale d'un seul carbone asymétrique dans une molécule qui en contient plusieurs
- 17 : catalyseur biologique
- 18 : constituant non ramifié de l'amidon
- 19 : perte de la structure tridimensionnelle d'une protéine liée à sa perte d'activité biologique
- 20 : lipide polycyclique présent dans les membranes eucaryotes

II Au cours d'un TP de biochimie, un étudiant de L1 tente de caractériser les paramètres enzymatiques de la malate déshydrogénase extraite de la feuille de Maïs.

La mesure de cette activité enzymatique est réalisée par spectrophotométrie, à 25°C dans un milieu tamponné (TRIS 10mM, EDTA 1mM, dithiothréitol 1mM) à pH 7.6. En présence d'oxaloacétate (substrat), la quantité de NADH consommée par l'extrait enzymatique est mesurée par spectrophotométrie à 340nm.

L'étudiant réalise une étude de la vitesse de réaction en fonction de la concentration de substrat. Pour cela différents volumes de la solution mère d'oxaloacétate (à 10 mM) sont ajoutés dans une cuve de spectrophotométrie (volume de mesure 3 mL).

Tube n°	1	2	3	4	5
Volume d'oxaloacétate	3µL	7,5 µL	15 µL	30 µL	300µL
Concentration finale d'oxaloacétate (mM)					
V_0 (µmol.min ⁻¹)	0.18	0.4	0,67	1	2

- 1 - Calculer les concentrations finales d'oxaloacétate présentes dans chaque tube.
- 2 - En traçant un premier graphe, peut-on déterminer même de manière approximative les différents paramètres caractérisant cette enzyme?
Si oui, donner ces valeurs.
- 3 - Comment déterminer avec précision ces mêmes valeurs ?
- 4 - Tracez le ou les graphes nécessaires pour mesurer ces paramètres et les comparer aux résultats précédents.
Données : $1/0,18 = 5,5$ et $1/0,67 = 1,5$

III - Un peptide P est constitué de 11 résidus d'acide aminé.

- Après action de la trypsine, on obtient 3 peptides qui sont séquencés suivant la technique récurrente d'Edman :

- A : Pro-Trp-Gly-Arg
- B : Ala-Glu-Phe-Asp-Lys
- C : Thr-Ser

- Après action de la chymotrypsine, on obtient 3 peptides qui sont séquencés suivant la technique récurrente d'Edman :

- X : Gly-Arg-Thr-Ser
- Y : Ala-Glu-Phe
- Z : Asp-Lys-Pro-Trp

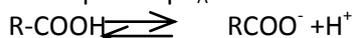
Parmi les peptides tryptiques et chymotrypsiques, quel est celui qui se trouve en position N-terminale de P ? Justifiez.

Même question pour le peptide en position C-terminale de P ? Justifiez.

Quelle est la séquence du peptide P ?

I – Questions de cours

- 1 - Qu'est-ce qui caractérise une molécule hydrophile ?
- 2 - Dessinez une molécule de saccharose et donnez-en le nom systématique.
- 3 - Considérant une solution d'acide caractérisé par un pK_A :



Donner l'équation d'Henderson-Hasselbalch reliant les concentrations de la forme acide et de la forme base conjuguée en fonction du pH.

- 4 – Quels sont les sucres qui apparaissent dans une solution alcaline de fructose (nom, formules linéaires et cycliques de composés) ?
- 5 – Ecrire la formule d'une phosphatidyl-choline à pH 7, en précisant le nom des liaisons existantes (les placer sur la formule) et en justifiant son état ionique. Quel est l'autre nom de la phosphatidyl-choline et quelle est son utilisation dans l'industrie alimentaire ?

Exercice

Le glucose peut être oxydé par l'intermédiaire d'une enzyme, la glucose oxydase, en acide gluconique.

1 – Dessinez une molécule d'acide gluconique en projection de Haworth.
Lors de cette oxydation, de l'eau oxygénée est libérée. Cette eau oxygénée en présence de *peroxydase* oxyde par hydroxylation un chromogène réduit incolore en un dérivé oxydé coloré (rose). Cette réaction est mise à profit pour doser le glucose en solution. L'intensité de la coloration, proportionnelle à la concentration en glucose, peut être mesurée au spectrophotomètre.

Nous nous proposons de déterminer la concentration de glucose d'une solution inconnue (X) grâce à une solution de concentration connue (C) de concentration 1 g.L^{-1} préalablement diluée au 1/10. Une gamme d'étalonnage est réalisée en prenant les volumes suivant de la solution C diluée.

N° tube	1	2	3	4	5	6
Volume de C (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Volume d'H ₂ O (mL)	2	1,8	1,6	1,4	1,2	1

2 – Quelle est la concentration de glucose dans chaque tube ?

N° tube	1	2	3	4	5	6
Concentration (mg.mL ⁻¹)						

Après avoir ajouté 5 mL de réactif (qui contient les enzymes et le chromogène réduit) et laissé incuber 30 minutes à 37°C, l'absorbance de chaque tube lue à 510 nm est reportée dans le tableau ci-dessous.

N° tube	1	2	3	4	5	6
Absorbance (U.A.)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5

A partir de la solution mère X, une dilution au 1/10 est également réalisée. Plusieurs dilutions de la solution X diluée ont été réalisées, mises à incuber en même temps que les tubes précédents et leur absorbance mesurée :

N° tube	7	8	9
Volume de X (mL)	0,2	0,4	0,8
Volume d'H ₂ O (mL)	1,8	1,6	1,2
Absorbance (U.A.)	0,12	0,24	0,48

3 - Tracer la droite d'étalonnage en prenant $1 \text{ cm} = 0,002 \text{ mg.mL}^{-1}$ et $1 \text{ cm} = 0,04 \text{ UA}$

4 - Quelle est la concentration des tubes 7, 8 et 9 ?

N° tube	7	8	9
Concentration (mg.mL ⁻¹)			

5 - En déduire la concentration de la solution X de départ.

MAI 2008

QUESTIONS DE COURS (sur 10 points)

- 1 - Quels sont les 2 paramètres qui caractérisent une enzyme. Quelle relation sous forme d'équation existe entre ces paramètres ? Comment les obtient-on graphiquement ?
- 2 - Donnez le nom général et un exemple (nom et formule à pH = 7) des éléments de bases qui, enchaînés les uns aux autres, permettent d'obtenir les classes de molécules suivantes :
- Les protéines
 - Les acides nucléiques
- 3 - Quel type de liaison retrouve-t-on pour enchaîner ces molécules pour former les macromolécules déjà citées ? Dessinez schématiquement cette liaison.
- Les protéines
 - Les acides nucléiques
- 4 - Quelle est la principale force stabilisatrice des structures secondaires ?
- des protéines
 - des acides nucléiques ?

EXERCICES (sur 10 points)

I - On veut déterminer la vitesse initiale d'une réaction enzymatique. La quantité de substrat transformée en fonction du temps est donnée dans le tableau suivant :

Temps (minutes)	0	1	2	3	5	10	20
Quantité de substrat transformé (nmoles)	0	30	60	90	110	170	230

- a - Pendant combien de temps la vitesse de la réaction peut être assimilée à V_0 , vitesse initiale de la réaction ?
- b - Calculez cette vitesse initiale.

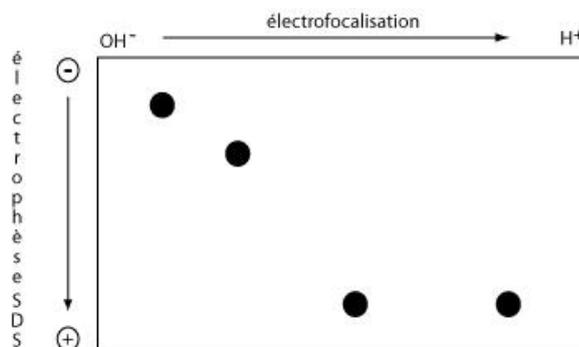
II - On dispose d'un mélange de quatre protéines globulaires :

La protéine A a une masse moléculaire de 15000 Da, un $pI = 6$; elle est constituée d'une seule sous unité.
La protéine B a une masse moléculaire de 15000 Da, un $pI = 4$; elle est constituée d'une seule sous unité.
La protéine C a une masse moléculaire de 80000 Da, un $pI = 8$; elle est constituée de deux sous unités identiques reliées par un pont disulfure.

La protéine D a une masse moléculaire de 60000 Da, un $pI = 7$; elle est constituée d'une seule sous unité.

1°) Ces protéines sont soumises à une chromatographie par tamis moléculaire qui sépare les protéines globulaires entre 10 000 et 100 000 Da de masse moléculaire. Enumérez les protéines dans leur ordre de sortie de la colonne de chromatographie. Justifiez.

2°) D'autre part, le mélange de ces protéines est soumis à une électrophorèse bi-dimensionnelle (électrofocalisation suivie d'une électrophorèse en présence de SDS). Identifier les spots sur le gel ci-dessous après avoir rappelé le principe de cette technique. Justifiez.



3°) Le mélange de ces protéines est soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en condition dénaturante avec et sans β -mercaptoéthanol. Faire un schéma du résultat de l'électrophorèse dans les deux conditions en précisant le sens de migration, le dépôt et la polarité du gel. Justifiez.

QUESTIONS DE COURS (sur 10 points)

I – Qu’obtient-on par oxydation d’un alcool primaire ? Donner un exemple (on peut n’écrire que la formule de la fonction alcool associée à un radical R et indiquer ce que cette fonction devient).

II – Ecrire la formule de l’acide phosphorique et de l’acide phosphatidique à pH = 7,0 en justifiant l’état d’ionisation de ces molécules.

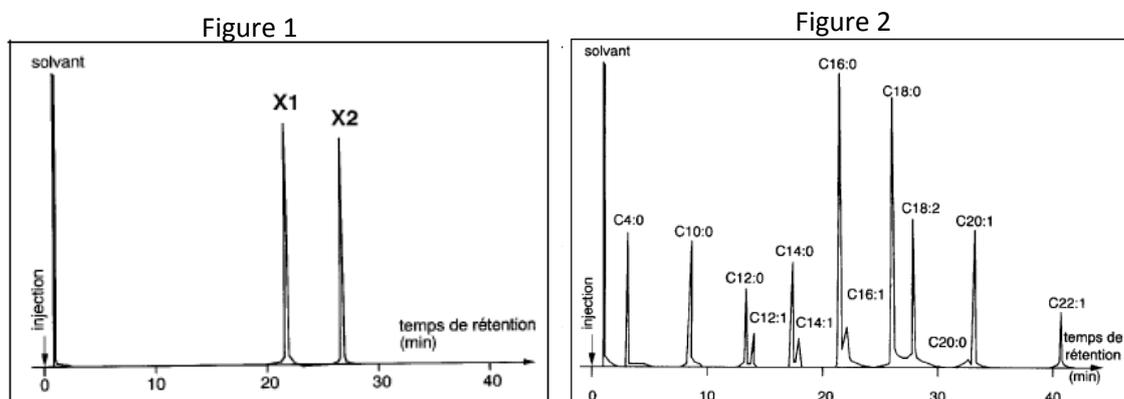
III – Qu’est-ce qu’une gamme d’étalonnage ? A quoi sert-elle ? Donner un exemple (vu en TP).

EXERCICES (sur 10 points)

I - ANALYSE D'UN MÉLANGE D'ACIDES GRAS

Les acides gras d'un mélange à analyser sont transformés en esters méthyliques et soumis à une chromatographie en phase gazeuse (CPG).

On compare l'enregistrement obtenu (fig. 1) avec celui obtenu dans les mêmes conditions avec un mélange d'esters méthyliques d'acides gras témoins (fig. 2).



1. Rappeler le principe de la chromatographie en phase gazeuse. Expliquer l’ordre de sortie des acides gras dans l’enregistrement de la figure 2.
2. Par comparaison des figures 1 et 2, quels peuvent être les acides gras X1 et X2 ?
3. L’indice d’iode de ces deux acides gras a été mesuré : l’acide gras X1 a un indice d’iode nul ; l’acide X2 a un indice d’iode non nul. En déduire de ces données le nom et donner la formule des acides gras du mélange.

II - Le pouvoir rotatoire spécifique pour une solution fraîchement préparée de glucose diminue et se stabilise après un certain temps à +52,7°.

1. Rappeler ce qu’est le pouvoir rotatoire et à quelle caractéristique de la molécule il est relié.
2. Quel phénomène se traduit par le changement de pouvoir rotatoire observé ?
3. Après avoir écrit la formule des molécules de α-D-glucose et de β-D-glucose, calculez les proportions des deux formes α et β du glucose à l’équilibre sachant qu’une solution de glucose à l’équilibre présente un pouvoir rotatoire de 52,7 °.

Données: Le pouvoir rotatoire spécifique de l’ α-D-glucose est de +112,2 ° celui du β-D-glucose est de +18,7°.

Il n’y a pas de formule magique à connaître. Il suffit de savoir que les pouvoirs rotatoires s’additionnent.

Si vous avez des difficultés avec les calculs, vous pouvez faire les approximations suivantes :

pouvoir rotatoire spécifique de l’ α-D-glucose = + 120 °,

pouvoir rotatoire spécifique du β-D-glucose = + 20 ° et

la solution de glucose présente un pouvoir rotatoire de 50°.

QUESTIONS DE COURS (sur 10 points)

I – Lors de la détermination de la **structure primaire d'une protéine**, on utilise certains réactifs ou enzymes.

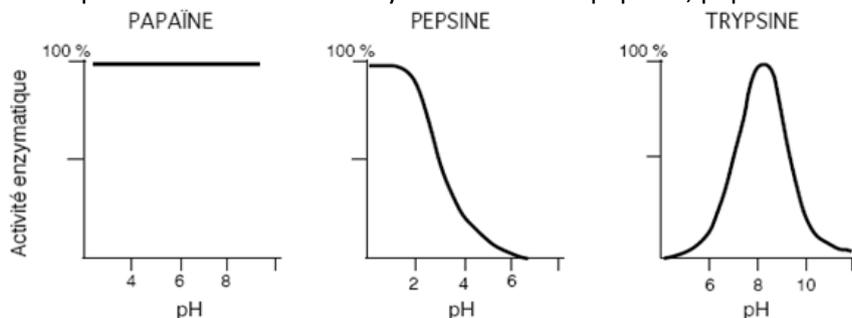
- 1°) Qu'est-ce que la structure primaire d'une protéine ?
- 2°) Citez une enzyme protéolytique en précisant ses caractéristiques de spécificité.
- 3°) Quelle est l'action du β-mercaptoéthanol ?

II – **Les acides nucléiques.**

- 1°) Quelles sont les caractéristiques importantes de la structure tridimensionnelle de l'ADN selon Watson et Crick ?
- 2°) Comment appelle-t-on les enzymes qui hydrolysent l'ADN ? Indiquer quel type de liaison est coupé.

EXERCICES (sur 10 points)

I - Interprétez les effets du pH sur l'activité des 3 enzymes suivantes : papaïne, pepsine et trypsine.



II – On veut séparer les acides aminés d'un mélange par chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions. Ces acides aminés sont dissous à pH = 1 et sont les suivants :

- | | |
|------------------------------|-------------------------------------|
| Histidine : pK = 1,8/6/9,2 | Lysine : pK = 2,2/9,2/10,5 |
| Tyrosine : PK = 2,2/9,2/10,1 | Acide Glutamique : pK = 2,1/4,1/9,5 |

- 1°) Donner le principe de cette méthode de chromatographie.
- 2°) Quel type de colonne doit-on choisir pour la séparation envisagée ? Justifier.
- 3°) Pour chaque acide aminé, donner la formule du zwitterion.
- 4°) Calculer le pHi de chaque acide aminé en expliquant le raisonnement.
- 5°) Donner l'ordre de sortie de ces acides aminés en bas de la colonne. Justifier.

NOVEMBRE 2008 – DS1

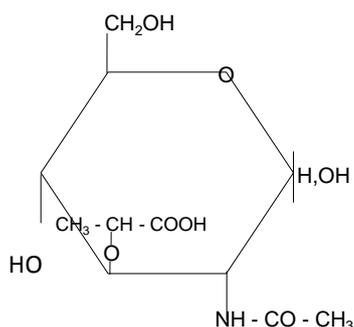
QUESTIONS DE COURS (sur 10 points)

- 1 – Qu'est-ce qu'une solution tampon ?
- 2 – Quelle est la propriété de l'eau qui donne à ce liquide ses caractéristiques originales ?
- 3 – Qu'est-ce que deux molécules épimères ? Donner un exemple.
- 4 – Dessinez le D-glucose sous forme linéaire et cyclique. Donner son nom complet sous forme cyclique.

Cette molécule est-elle hydrophile ou hydrophobe ? Pourquoi ?

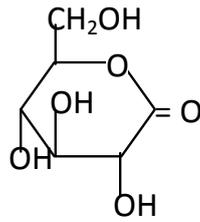
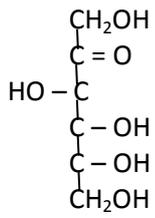
1 – Citer un type de chromatographie et expliquez son principe.

Exercice 1



Sur les molécules suivantes, indiquez les fonctions suivantes (vous pointerez une flèche sur la fonction et mettez la lettre correspondante),

- A : fonction aldéhyde
- B : fonction cétone
- C : fonction acide carboxylique
- D : fonction alcool primaire
- E : fonction ester
- F : fonction amine
- G : fonction amide
- H : fonction alcool secondaire
- I : fonction éther
- J : fonction hémiacétalique



Exercice 2

Lors d'une électrophorèse sur couche mince, on se propose de séparer le glucose, la glucosamine ($pK_A \approx 11,5$) et l'acide D-glucuronique ($pK_A \approx 4$). Après avoir donné les domaines de prédominance de ces trois molécules, attribuez à chacune d'entre elles sa place sur l'électrophorégramme et indiquez clairement le dépôt, l'anode et la cathode.

