

ANNALES

JANVIER 2009 – DS2

1 - Faire un schéma comparatif de la phosphatidylcholine et de la sphingomyéline en faisant ressortir les similitudes et les différences. Préciser de quelles molécules simples participent à la formation de ces composés et quelles liaisons relient ces dernières.

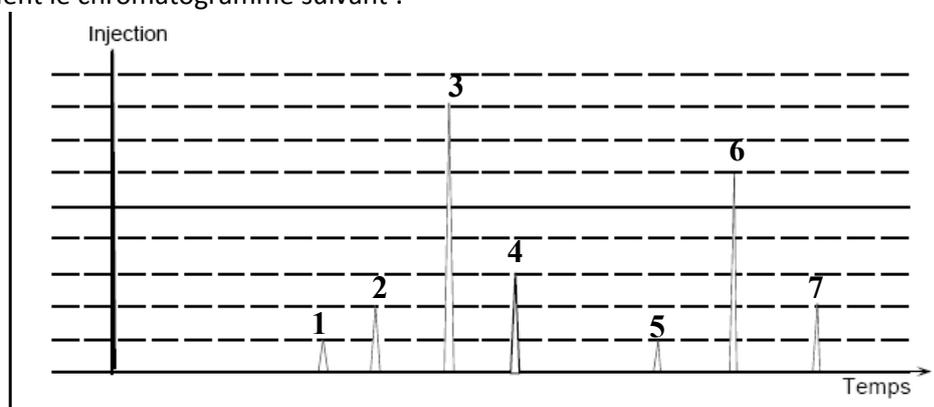
2 - La publicité pour les compléments alimentaires riches en oméga 3 et oméga 6 envahit notre univers. De quelles molécules s'agit-il précisément (nom et formule) ? Pourquoi faut-il en consommer ?

3 - Le lactose

- Dessinez une molécule de lactose et donner son nom systématique.
- Cette molécule est-elle capable de réduire la liqueur de Fehling ? Justifiez votre réponse.
- Quels seront les produits obtenus à partir d'une solution de lactose soumise à une réduction suivie d'hydrolyse acide ?

EXERCICE n° 1 : CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

On soumet un extrait d'acides gras de triglycérides sériques (= du sérum) à une estérification par le méthanol en présence de catalyseurs appropriés. Les esters méthyliques obtenus sont soumis à une chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur une colonne imprégnée de graisses siliconées (phase stationnaire apolaire). On obtient le chromatogramme suivant :



La référence par rapport à des acides gras étalons nous indique la présence d'acide laurylique (C12:0), d'acide myristique (C14:0), d'acide palmitique (C16:0), d'acide palmitoléique (C16:1), d'acide stéarique (C18:0), d'acide oléique (C18:1) et d'acide linoléique (C18:2).

1. Rappeler le principe de la chromatographie en phase gazeuse.
2. A quels pics correspondent les différents acides gras indiqués ci-dessus ? Donner la formule développée de chacun des acides gras.
3. En utilisant les données du chromatogramme, indiquer en pourcentage la composition des triglycérides analysés en acides. Les pics étant très étroits on considérera que la concentration est proportionnelle à la hauteur. Si vous ne pouvez pas calculer le pourcentage de façon précise puisque vous n'avez pas de calculatrice, indiquer le calcul qu'il faudrait faire.

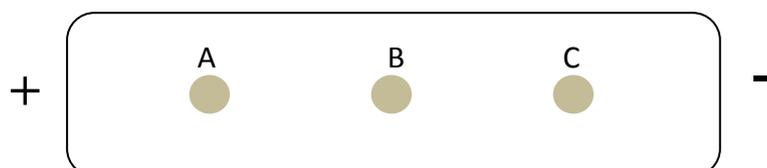
EXERCICE n°2 : CONCENTRATIONS

Sachant que le glucose a une masse molaire de 180 g.mol^{-1} , quelle est la concentration en M :

- d'une solution contenant 9 g.L^{-1}
- d'une solution contenant 50 mmoles dans 100 mL d' H_2O ?

EXERCICE n°3 : ÉLECTROPHORÈSE

Lors d'une électrophorèse sur couche mince, on se propose de séparer le glucose, la glucosamine ($\text{pK}_A \approx 11,5$) et l'acide D-glucuronique ($\text{pK}_A \approx 4$). 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.



QUESTIONS DE COURS

1 – Les ponts disulfures

- Dessinez un pont disulfure avec les 2 acides aminés correspondants.
- Dans quelles conditions les ponts disulfures se forment –ils ?
- Quel réactif peut-on utiliser pour les rompre ?

2 – Structure primaire des protéines

- Comment appelle-t-on le premier résidu d'une protéine ? Pourquoi ?
- Mêmes questions avec dernier résidu ?
- Citez 2 enzymes protéolytiques en précisant leur spécificité d'action.

3 – Structure secondaire des protéines :

- Qu'appelle-t-on structure secondaire d'une protéine ?
- Quelle est la principale force qui maintient la structure secondaire des protéines ?

EXERCICES

I - Après avoir rappelé quelle forme d'un acide aminé le pH isoélectrique (pHi) caractérise, et donné les domaines de prédominance de chacun des acides aminés suivants, calculez les valeurs des pHi de ces acides aminés à partir des valeurs des pK des groupements ionisables à 25°C.

	pK ₁ (COOH)	pK ₂ (NH ₂)	pK _R (chaîne latérale)
Asp (D)	2,0	9,9	3,9
His (H)	1,8	9,2	6,0
Tyr (Y)	2,2	9,2	10,1

II – Une protéine P contient 0,905 % en poids de tyrosine ? Sachant que la masse molaire de la tyrosine est 181 g.mole⁻¹, calculer la masse molaire minimale de P.

- La masse molaire de P a été déterminée par chromatographie d'exclusion de gel. Il a été trouvé une valeur approximative de 80 000g mole⁻¹.
 - Donner brièvement le principe de cette méthode.
 - En déduire le nombre de tyrosines contenues dans P.
- L'absorbance à 295 nm d'une solution très basique de P donne 0,24. Étant donné que la tyrosine est le seul acide aminé aromatique de P, calculer la concentration de la tyrosine dans la solution, sachant que le coefficient d'absorption molaire est : $\epsilon_{295} = 1200 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (épaisseur de la cuve : 1 cm).
 - Pourquoi mesure-t-on l'absorbance à 295 nm ?
 - En déduire la concentration de P dans la solution.

III – Détermination de la structure d'un hexapeptide P

1°) L'action ménagée sur ce peptide du réactif d'Edman permet de mettre en évidence du PTH-Asp. Une hydrolyse totale du peptide restant en milieu HCl 6N à chaud aboutit à l'identification des acides aminés suivants : Phénylalanine, Méthionine, Tyrosine, Lysine. Ils sont tous à la même concentration ; un seul acide aminé est à la concentration double des autres.

- Quelles conclusions peut-on tirer de ces expériences ? Pourquoi ?

2°) Le traitement de P par la chymotrypsine permet d'obtenir trois dipeptides B, C et D.

- Après avoir rappelé le rôle de la chymotrypsine, quelles conclusions-pouvez-vous tirer ?

3°) L'action de la trypsine sur P libère deux peptides E et F.

Une action très brève de la carboxypeptidase sur E et F permet d'identifier respectivement la Lysine et la Tyrosine. Rappeler le rôle de la trypsine et celui de la carboxypeptidase. Conclusions ?

L'action ménagée du réactif d'Edman sur E et F libère respectivement du PTH-Asp et du PTH-Tyr.

Conclusions ?

4°) Donner la structure de l'hexapeptide P.

DS 1 Mai 2009

QUESTIONS DE COURS

I – LES ACIDES NUCLEIQUES

1. Donner le nom et la position de la liaison unissant la base avec le sucre dans l'adénosine et la cytidine.
2. Quel type de liaison unit les nucléotides dans les chaînes polynucléotidiques ? Quels carbones sont impliqués dans cette liaison ?
3. Quel type de liaison joue un rôle prépondérant dans la structure secondaire des ADN ?
4. Indiquer les formes caractéristiques de la structure tertiaire de l'ADN lorsqu'il est :
 - (a) sous forme linéaire et
 - (b) sous forme circulaire.

II – Acides aminés, Protéines et Enzymologie

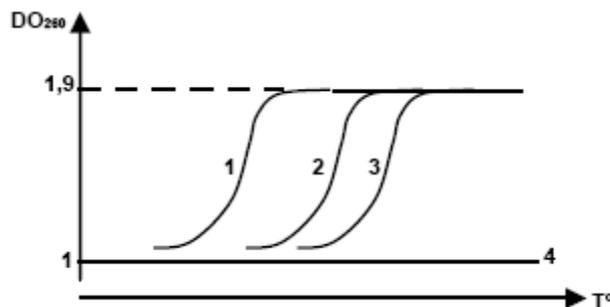
1. Parmi les AA suivants, quel est celui (ou ceux) qui absorbe(nt) dans l'UV à 280 nm et celui (ou ceux) qui est (sont) chargé(s) positivement à pH 7 ? Justifiez.
 - a) Asparagine
 - b) Histidine
 - c) Méthionine
 - d) Proline
 - e) Tryptophane
2. Parmi les acides aminés ci-dessous, indiquez celui qui renferme un pont disulfure :
 - a) La Méthionine
 - b) La Proline
 - c) La Cystéine
 - d) La Cystine
 - e) L'Histidine
3. Pour un pH inférieur à son pHi, une protéine sera-t-elle chargée globalement positivement ou n
4. Pourquoi les réactions enzymatiques se font-elle à une température contrôlée ?

EXERCICE I

La composition, en bases, d'ADN d'origines différentes a été mesurée à 2% près.

ADN	%A	%C	%G	%T
A	21	28	29	22
B	23	24	28	35
C	18	31	32	19
D	33	17	18	32

- 1) Calculer le pourcentage de (A + T) pour chacun de ces ADN.
- 2) Dans les mêmes conditions expérimentales, on prépare, pour chacun des ces ADN, une solution dont l'absorbance est de 1,0 U.A. Une dénaturation de ces différents ADN est réalisée par chauffage progressif et, en même temps, l'absorbance de chaque solution est mesurée. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous:



- 3) Expliquez le phénomène observé.
- 4) A quels ADN correspondent les courbes 1, 2, 3 et 4 ? Justifier votre réponse.

EXERCICE II

L'activité d'une enzyme a été caractérisée en absence et en présence d'un inhibiteur. Les différents dosages effectués en absence d'inhibiteur sont consignés dans le tableau suivant :

Concentration de substrat ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	0	1	2	5	10	20	50	100	200	400	600
Vitesse initiale ($\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	0	0,26	0,40	0,57	0,66	0,73	0,77	0,78	0,80	0,80	0,80

1) Déterminer, sans aucun graphique et en utilisant des unités correctes, les valeurs des constantes V_{max} et K_M . Justifier.

Des dosages similaires ont été effectués en présence d'un inhibiteur et sont consignés dans le tableau suivant :

Concentration de substrat ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	0	1	4	8	16	30	50	100	400	600	800
Vitesse initiale ($\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	0	0,16	0,40	0,53	0,64	0,70	0,74	0,77	0,80	0,80	0,80

2) Déterminer, toujours sans aucun graphique et en utilisant des unités correctes, les valeurs de V'_{max} et $K'M$. Justifier. De quel type d'inhibiteur s'agit-il ici ?

JUILLET 2009 –Premier Semestre

QUESTIONS DE COURS

I – LES GLUCIDES

1. Donnez la définition d'un glucide.
2. Dessinez une molécule de ribose sous forme linéaire et cyclique et numérotez les carbones.
3. Dans quelle macromolécule biologique retrouve-t-on le ribose ?
4. Indiquez, en face des couples suivants, ceux qui sont anomères, épimères ou énantiomères¹ :
D-glucopyranose et L-glucopyranose :
D-glucopyranose et D- fructofuranose :
D-glucopyranose et D-glucomannose :
 α - D-glucopyranose et β - D-glucopyranose :

II – LIPIDES

1. Ecrire la formule semi-développée d'un acide gras polyinsaturé possédant 18 atomes de C et trois doubles liaisons dont la première est située entre les carbones 9 et 10. Donner son nom.
2. Préciser en justifiant la réponse, le caractère hydrophile, hydrophobe ou amphiphile des composés suivants : un triglycéride (triacylglycérol), un glycérophospholipide, le cholestérol.

EXERCICE I

Soit un mélange constitué de trois glycérophospholipides :

- la phosphatidylcholine
- le phosphatidylglycérol
- la phosphatidylsérine

1. Donnez les formules de ces trois composés* en mettant en évidence les liaisons caractéristiques
2. Quel est l'état d'ionisation à pH 7,0 de chacun de ces lipides ? Justifiez.
3. Une électrophorèse de ce mélange est réalisée à pH 7,0. Dessinez l'électrophorégramme obtenu en indiquant en toutes lettres ANODE et CATHODE. Justifiez le sens de migration observé pour chacun des lipides.

*Le glycérol : $\text{CH}_2\text{OH} - \text{CHOH} - \text{CH}_2\text{OH}$

La sérine : $\text{CH}_2\text{OH} - \underset{\text{NH}_2}{\text{CH}} - \text{COOH}$

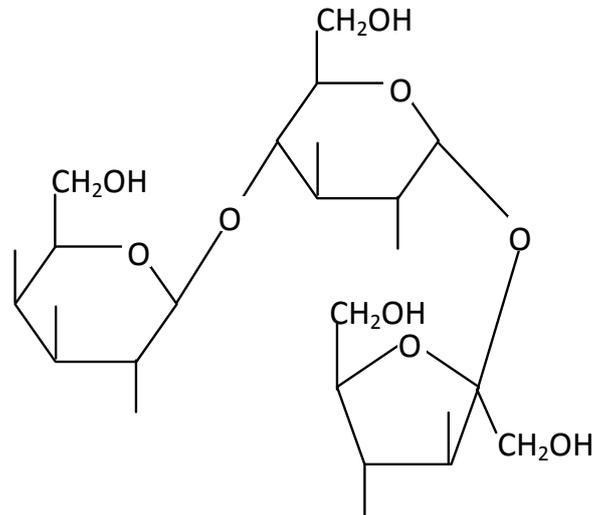
La choline : $\text{CH}_2\text{OH} - \text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$

¹ *Si aucun de ces termes ne s'applique à ces couples, indiquez : RIEN en toutes lettres

EXERCICE II

Soit le trisaccharide suivant :

1. Donnez la nomenclature complète de ce glucide.
2. Ce glucide est-il ou non réducteur ? Justifiez.
3. Quelles enzymes sont susceptibles d'hydrolyser les liaisons osidiques de ce glucide ? Justifiez et indiquez sur le schéma quelle liaison est hydrolysée par quelle enzyme.
4. Quels seraient les produits obtenus par méthylation suivie d'hydrolyse (noms et formules) ?



JUILLET 2009 –Second Semestre

QUESTIONS DE COURS

I – LES ACIDES AMINÉS, LES PEPTIDES, LES PROTÉINES

1. Quel est le pH d'une solution d'acide aminé dans l'eau pure ? Sous quelle forme d'ionisation se trouve alors l'acide aminé ?
2. Donner l'allure sur un même graphique des courbes de titrage de l'histidine par HCl et par NaOH en y plaçant les différents pKs (1,8 ; 6,0 ; 9,2). En déduire si le noyau imidazole de l'histidine est acide ou basique.
3. Pourquoi la liaison peptidique est-elle plane ?

II– ENZYMOLOGIE

1. Donnez l'équation de Michaelis-Menten.
2. Définissez le V_{max} et le K_M d'un couple enzyme-substrat.

EXERCICE 1

Soit un hexapeptide P dont on veut déterminer la structure primaire. Pour chacune des expériences, vous rappellerez brièvement le rôle des réactifs utilisés et vous tirerez le maximum de conclusions permettant d'expliquer la structure.

1. L'action du réactif d'Edman permet d'identifier un PTH-Arg.
2. Une hydrolyse acide totale de P permet d'obtenir un mélange équimoléculaire des acides aminés suivants : Arg, Lys, Met, Tyr et Val.
3. L'action de la trypsine sur P libère un acide aminé et un pentapeptide P'. L'action ménagée de l'aminopeptidase sur P' libère une tyrosine
4. L'action du bromure de cyanogène sur le peptide P libère deux tripeptides.
5. L'hydrolyse par la chymotrypsine du peptide P génère 3 dipeptides.
6. Quelle est la séquence du peptide P ?

EXERCICE 2

La technique de Sanger a été utilisée pour déterminer la séquence d'un brin d'ADN X. L'autoradiographie obtenue est la suivante :

	ddA	ddT	ddC	ddG
		—		
—		—		—
			—	—
—		—		
			—	—
—			—	

- 1 - Donner brièvement le principe de cette méthode.
- 2 - Préciser les positions de l'anode et de la cathode (écrire **anode** et **cathode** sur l'autoradiogramme).
- 3 - Déterminer la séquence du brin d'ADN X et préciser où se trouvent l'extrémité 3' et l'extrémité 5' de cette séquence.
- 4 - Après avoir écrit la séquence de l'ADN double brin correspondant, indiquer si cette séquence renferme un palindrome. Justifier.

Novembre 2009

- 1 – Définition de l'électronégativité.
- 2 – Conséquences de l'électronégativité sur les propriétés de la molécule d'eau.
- 3 – En quelle unité exprime-t-on
 - une masse molaire ?
 - une masse moléculaire ?
- 4 – Loi de Beer-Lambert ? Définir tous les termes et indiquer leurs unités.
- 5 – Principe de la chromatographie par tamis moléculaire (chromatographie d'exclusion).

Exercice 1

1°) À partir d'une solution mère de glucose de concentration 1 mg.mL^{-1} , vous devez préparer une solution de concentration $0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$ dans une fiole de 100 mL.

- Quel volume de la solution mère allez-vous prélever ?

2°) À partir de cette solution, vous allez réaliser une gamme étalon qui vous permettra de doser le glucose dans une solution de concentration inconnue. Dans cinq tubes à essai, vous prélèverez cinq volumes compris entre 0 et 2 mL de la solution $0,05 \text{ mg.mL}^{-1}$. Vous complèterez à 2 mL.

- Quelle est la concentration dans chaque tube ?

N° tube	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Volume prélevé (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8
Concentration (mg.mL^{-1})					

3°) Après avoir réalisé une réaction colorimétrique (cf poly de TP*²), vous mesurez l'absorbance de ces différents tubes :

N° tube	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Concentration (mg.mL^{-1})					
Absorbance	0	0,2	0,4	0,6	0,8

4°) Vous cherchez à déterminer la concentration de la solution X. Cette solution a une concentration comprise entre $0,5$ et $1,5 \text{ mg.mL}^{-1}$. Vous allez faire une solution fille de cette solution en prélevant 1 mL dans une fiole de 20 mL. Puis vous faites 3 dilutions de X dans un volume final de 2 mL :

N° tube	X ₁	X ₂	X ₃
Volume prélevé (mL)	0,2	0,45	0,7

² On rajoute 5 mL de réactif pour la réaction, contenant l'enzyme et le chromogène réduit. Pour simplifier les calculs, on ne tiendra pas compte de ces 5 mL.

5°) L'absorbance a été mesurée pour ces 3 tubes par utilisation de la droite d'étalonnage (vous tracez cette courbe en prenant en $1 \text{ cm} = 0,001 \text{ mg.mL}^{-1}$ et $1 \text{ cm} = 0,05 \text{ UA}$).

N° tube	X ₁	X ₂	X ₃
Absorbance	0,15	0,35	0,55
Concentration (mg.mL ⁻¹)			

Après avoir tracé une droite d'étalonnage avec les valeurs d'absorbance obtenues pour les tubes T₁ à T₅, vous déterminerez la concentration des tubes X₁ à X₃.

Concentration du tube X1 :

Concentration du tube X2 :

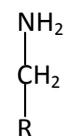
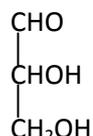
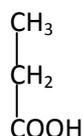
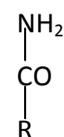
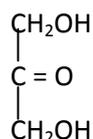
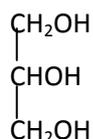
Concentration du tube X3 :

Quelle est la concentration de la solution X ?

Exercice 2

Sur les molécules ci-dessous, 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
- F : fonction amine
- G : fonction amide
- H : fonction alcool secondaire



Indiquez les fonctions qui présentent un pK_A.

Janvier 2010

1 – Qu'est-ce qu'un composé hydrophile ?

Citez un exemple en précisant quelle fonction de la molécule rend ce composé hydrophile, dessinez et nommez la molécule.

2 – Le D-sorbitol est un polyol obtenu par réduction de la fonction aldéhyde du D-glucose. Écrire en représentation de Fisher la formule linéaire du D-glucose et celle de D-sorbitol.

3 – Le D-fructose donne, par réduction de sa fonction cétone du D-sorbitol et du D-mannitol. Écrire en représentation de Fischer la formule du D-fructose, celle du D-mannitol et celle du D-mannose.

4 – Faire un schéma comparatif d'une phosphatidylcholine et d'un triglycéride en faisant ressortir les similitudes et les différences. Préciser quelles molécules simples participent à la formation de ces composés et quelles liaisons relient ces dernières

5 – Quelles sont les principales conséquences de la présence de doubles liaisons chez certains acides gras ?

Exercice 1 : ÉLECTROPHORÈSE DE LIPIDES

L'électrophorèse d'un mélange de lipides est réalisée à pH 7. Ce mélange est formé d'un :

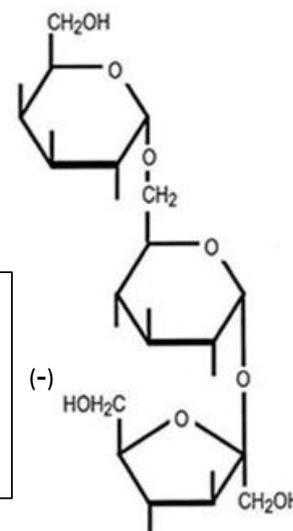
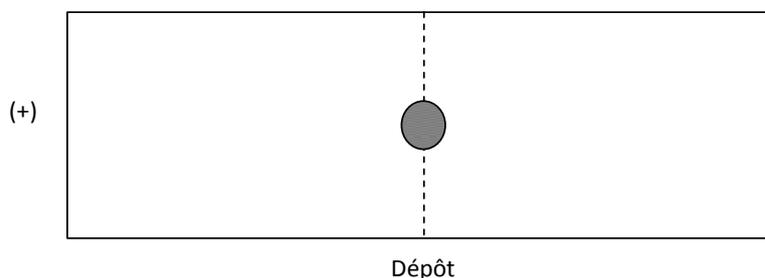
- phosphatidylglycérol (A)
- phosphatidyléthanolamine (B)

- triglycéride (tristéarooléopalmitine) (C)

1 – Donner le principe de l'électrophorèse

2 - Écrire ces formules à pH7

3 – Représenter l'électrophorégramme attendu en plaçant l'anode et la cathode (écrire anode et cathode) et justifier la migration des différents composés



Exercice 2 : DETERMINATION DE LA STRUCTURE D'UN GLUCIDE

Soit le triholoside ci-contre :

1 - Donnez-en le nom systématique.

2 - Ce triholoside peut-il présenter le phénomène de mutarotation ? Pourquoi ?

3 - Quels sont les enzymes (osidases) qui peuvent hydrolyser ce triholoside ?

4 – Quels sont les produits obtenus après perméthylation suivie d'hydrolyse acide (noms et formules des composés)

Janvier 2010 : régime dérogatoire

1 – Quel est le comportement de l'éthanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$) dans l'eau ? Comment l'explique-t-on ? Faire un schéma.

2 – Même questions pour le benzène (C_6H_6).

3 – Noms systématiques et formules cycliques du glucose, du ribose et du fructose.

4 – Après avoir défini les termes épimères et anomères, donner des exemples (noms et formules) en partant du glucose.

5 – Donner les noms et les formules de trois acides gras insaturés en C18.

- Définir l'indice d'iode et indiquer son utilité.
- Définir un cériide.

Exercice 1 : DETERMINATION DE LA STRUCTURE D'UN GLUCIDE

L'hydrolyse acide d'un oligosaccharide, le Raffinose, donne du glucose, du fructose et du galactose.

1. L'action d'iodure de méthyle suivie d'hydrolyse acide permet d'obtenir en quantités stœchiométriques :

- du 2,3,4,6-tétraméthyl D-galactose
- du 1,3,4,6-tétraméthyl D-fructose
- du 2,3,4-triméthyl D-glucose

- Rappeler l'action de l'iodure de méthyle suivie d'hydrolyse acide dans la détermination de la structure d'un oligosaccharide.
- Ecrire la formule des composés obtenus
- Conclusions sur le Raffinose.

L'action d'une α -galactosidase libère le galactose et du saccharose.

- Quel est le rôle d'une α -galactosidase ?
- Quelle est la formule développée du Raffinose compatible avec l'ensemble de ces résultats ?
- Le Raffinose est-il réducteur ? Justifier votre réponse.

Exercice 2 : Donner la formule du stéaryl-1, oléyl-2phosphatidyléthanolamine à pH7. Cette molécule possède-t-elle un pHi ? Justifiez.

Avril 2010

Question de cours :

- 1 – Quelle propriété physicochimique de l'**ADN** permet de suivre sa **dénaturation** ? Donner la courbe caractéristique obtenue en indiquant quel paramètre elle permet de mesurer.
- 2 – Qu'est-ce qu'une endopeptidase et une exopeptidase ? Citer un exemple de chaque en précisant, le cas échéant, sa spécificité.
- 3 – De quelle catégorie de molécules (lipides, glucides, protéine/peptides) fait partie l'aspartam, petite molécule, utilisé très fréquemment comme édulcorant ?
- 4 – Pour un pH inférieur à son pHi, une protéine sera-t-elle chargée globalement positivement ou négativement ? Justifiez.
- 5 – Citez un dérivé d'acide aminé obtenu par décarboxylation et qui a des propriétés biologiques importantes. Quelles sont ces propriétés biologiques ?

Exercice 1 :

La séquence d'un ADN bicaténaire (double brin), correspondant à un gène, est partiellement reportée ci-dessous.

5' ATACGGGATCCGAGCTCTCG 3'

- 1) Ecrire la séquence et l'orientation du second brin de ce fragment.
- 2) Quel type de liaison stabilise cet ADN bicaténaire ?
- 3) Donner le brin complémentaire d'ARN de la première séquence donnée.
- 4) Quelles sont les trois différences structurales entre l'ADN et l'ARN ?

Exercice 2 :

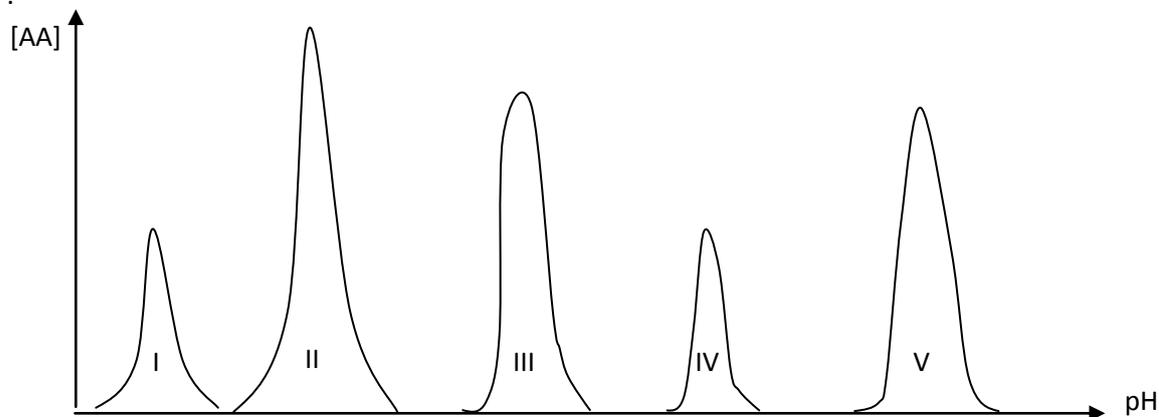
A - Une solution de 2 mL d'un peptide donne à pH 5,5 une absorbance à 280 nm égale à 0,5. Calculer la quantité (en mole) de ce peptide en solution sachant que le coefficient d'absorption molaire de l'acide aminé qui absorbe à 280 nm est $\epsilon_{280} = 5\,000 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.

B - Chromatographie sur résine échangeuse d'ions.

L'hydrolyse d'un peptide par HCl 6M à 110°C 24h fournit un mélange d'acides aminés que l'on veut séparer par chromatographie sur colonne échangeuse d'ions.

- Quel est l'état d'ionisation des acides aminés après cette hydrolyse acide ? Pourquoi ?
- Quelle doit être la charge portée par la résine pour que tous les acides aminés restent accrochés ?

Les acides aminés vont être élués de la colonne par variation progressive de pH. Le diagramme d'élué est le suivant :



- Sachant que le mélange est constitué d'arginine, d'acide aspartique, d'alanine, d'asparagine et d'histidine, donnez les domaines de prédominance pour chacun de ces acides aminés et calculez leur pHi.
- Indiquez quel pic correspond à chacun des acides aminés. Justifiez.

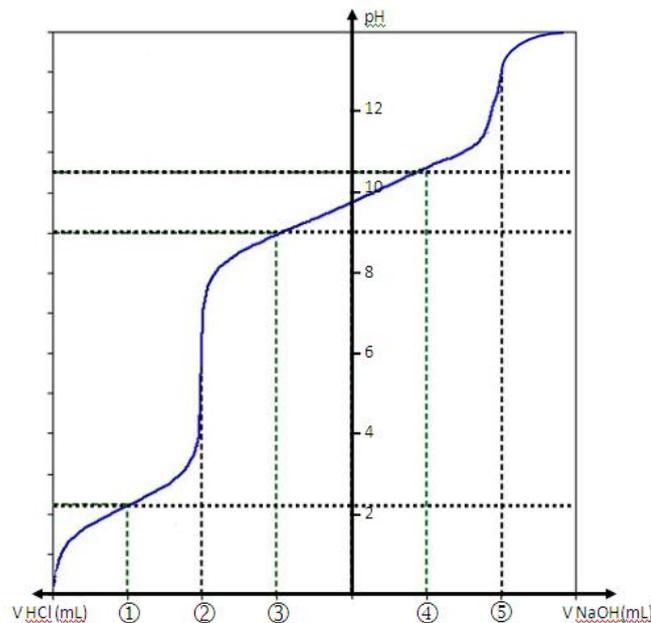
Données : pK des acides aminés

Alanine (2.4 ; 9.9), Acide aspartique (2.0 ; 3.9 ; 9.9), Arginine (1.8 ; 9.0 ; 12.5), Asparagine (2.1 ; 8.8), Histidine (1.8 ; 6.0 ; 9.2)

Jun 2010

Question de cours :

- 1 – Quelle est la particularité de la liaison peptidique qui conduit à l'établissement de structures secondaires définies ? Quelles sont ces structures secondaires ?
- 2 – Equation de Michaelis-Menten. Définissez en tous les termes et donnez leurs unités.
- 3 – Quand la vitesse V_{max} est-elle atteinte ?
- 4 – Soit la courbe de titrage d'un acide aminé



- Quel est (approximativement) son pH_i ? Justifier.
- À quoi correspondent les chiffres 1, 2, 3 4 et 5 inscrits en abscisse ?
- Comment retrouve-t-on les pK_a caractéristiques de l'acide aminé ? Indiquez les valeurs trouvées ici.
- Quel est cet acide aminé ? Pourquoi ?
- Indiquez les domaines de prédominance des différentes formes ionisées de cet acide aminé en fonction du pH

5 – Définition du T_M d'un ADN.

Exercice 1 :

Un pentapeptide P, traité par HCl 6N à 100°C pendant 24 h fournit 0.2 mmoles d'Asp et 0.1 mmole de Lys. Aucun autre acide aminé n'a été détecté.

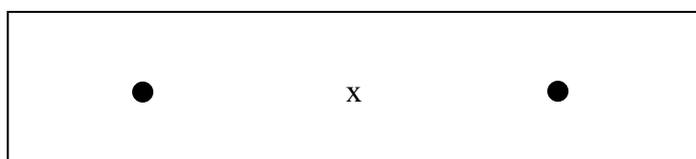
1 – Donner tous les acides aminés susceptibles de composer ce peptide. Justifiez.

Après traitement par la chymotrypsine, le pentapeptide donne un tétrapeptide et un acide aminé libre. Le pentapeptide réagit avec le réactif d'Edman pour donner un PTH-Trp.

2 – Quels sont les résidus N- et C-terminaux ? Justifiez.

Le traitement par la lysine du pentapeptide P libère un di- et un tri-peptide. L'un des peptides obtenus donne un PTH-Asp après traitement par le réactif d'Edman.

Une électrophorèse à pH = 7 de l'hydrolysats tryptique donne le profil suivant (tenir compte des distances de migration des di- et tri-peptides) :



- 3 – Donnez la séquence du pentapeptide ainsi que les charges nettes du di- et du tripeptide à pH = 7. Justifiez. Une solution de 2 mL du pentapeptide présente une absorbance à 280 nm de 0.56 U.A.. Le coefficient d'absorbance de l'acide aminé aromatique est de $5600 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.
En justifiant brièvement vos calculs :
- 4 – Donnez la concentration du pentapeptide P en solution.
- 5 – Donner le nombre de moles du pentapeptide P dans la solution.

Exercice 2 :

La vitesse d'une réaction enzymatique en fonction de la concentration du substrat est indiquée dans le tableau suivant :

V_o	33	25	20	12,5	8
[S]	$6,6 \times 10^{-2}$	$3,3 \times 10^{-2}$	$2,2 \times 10^{-2}$	$1,1 \times 10^{-2}$	$0,65 \times 10^{-2}$
$1/V_o$	3×10^{-2}	4×10^{-2}	5×10^{-2}	8×10^{-2}	12×10^{-2}
$1/[S]$	15	30	45	90	150

V_o est exprimée en moles de produit formé par minute et par gramme d'enzyme

[S] est exprimée en M.

- a - Tracer la courbe de Lineweaver-Burk en utilisant 2 cm pour 1 M^{-1} et 1 cm pour $1 \cdot 10^{-2}$ gramme d'enzyme .minute .mole de produit formé⁻¹
- b – Déterminer graphiquement K_M et V_{max} de cette enzyme
 $K_M =$ $V_{\text{max}} =$
- c – Tracer la courbe correspondant à la cinétique de la réaction lorsque l'on ajoute au milieu un analogue structural du substrat.

Juin 2010 - Régime Dérogatoire

- 1 – Citer trois facteurs qui modifient la vitesse d'une réaction enzymatique. Préciser le rôle et le mode d'action de ces facteurs.
- 2 – Écrire de manière schématique la séquence polynucléotidique 5'-ATTGCGA-3' de manière à représenter les ponts phosphodiester et sans dessiner précisément les bases.
- 3 – Quel est l'effet des bases fortes sur l'ADN, sur l'ARN ? Quelles sont les molécules résultantes ?
- 4 – Quelle(s) information(s) apporte une électrophorèse de protéines dans un gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium ?
- 5 – Quelles sont les principales forces stabilisatrices de la structure secondaire des protéines ?

Exercice 1 :

Soit un octapeptide P dont on veut déterminer la structure. Pour cela, on réalise un certain nombre d'expériences ; pour chacune d'elle, il est demandé de tirer le maximum de conclusions.

- 1°) Une hydrolyse acide permet de mettre en évidence le mélange d'acides aminés suivants, en proportions stoechiométriques : Asp, Arg, Gly, Val, Leu, Lys, Met.
- Conclusions ?
- 2°) L'action ménagée de l'aminopeptidase permet de mettre en évidence de l'acide aspartique.
- Rôle de l'aminopeptidase ?
- Que peut-on déduire de cette expérience ?
- 3°) La chymotrypsine est sans action sur le peptide P.
- Rôle de la chymotrypsine
- Conclusions ?
- 4°) L'action de la trypsine sur le peptide P libère deux tripeptides A et B et un dipeptide C qui absorbe la lumière à 280 nm.
- Rôle de la trypsine
- Conclusions ?

5°) L'action du réactif d'Edman sur l'hydrolysate tryptique permet d'obtenir un mélange de PTH-Asp à partir du peptide B, du PTH-Gly à partir du peptide A et PTH-Leu.

- Action du réactif d'Edman ?
- Conclusions ?

6°) L'action du bromure de cyanogène sur le peptide P libère un dipeptide et un hexapeptide. L'action du réactif d'Edman sur ces derniers libère un mélange de PTH-Asp et de PTH-Lys.

- Action du bromure de cyanogène ?
- Conclusion ?

7°) Séquence du peptide P ?

Exercice 2 : On détermine une partie d'une séquence nucléotidique monocaténaire S par la méthode de Sanger

1°) Exposez brièvement le principe de cette méthode

2°) On obtient l'autoradiographie suivante :

En déduire la séquence nucléotidique analysée S. Justifier.

JUILLET 2010 –Premier Semestre

I – L'eau

1. Ecrire l'équilibre et la constante de dissociation de l'eau. Quelle est la valeur de cette constante à 25°C ?
2. Expliquer le comportement de l'eau avec les composés non ionisés mais polaires. Expliquer avec un schéma.

II – Les glucides

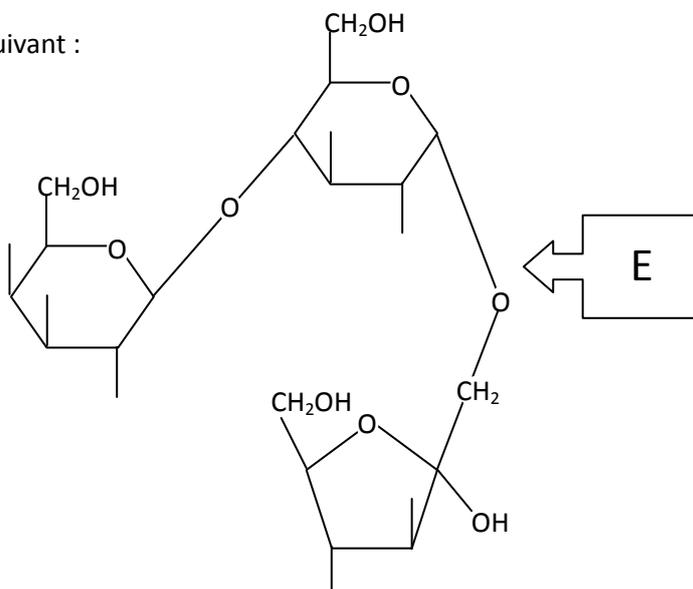
1. Dessinez une molécule de D-glucose et une molécule de L-glucose sous forme linéaire et cyclique et numérotez les carbones.
2. Qu'appelle-t-on épimères ? Citer 2 exemples en donnant les noms et les formules cycliques.

III – LIPIDES

1. Ecrire la formule et le nom du triglycéride formé à partir de l'acide stéarique, de l'acide oléique et de l'acide palmitique. Placer l'acide gras insaturé en position 2 du glycérol.
2. Préciser en justifiant la réponse, le caractère hydrophile, hydrophobe ou amphiphile des composés suivants : un triglycéride (triacylglycérol), un glycérophospholipide, le cholestérol.

EXERCICE I

Soit le trisaccharide G suivant :



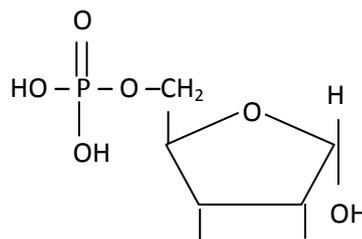
1 – Donner la nomenclature complète de ce glucide.

2 – Quelles sont les noms des produits obtenus par hydrolyse de G par l'enzyme E (dont le site de coupure est indiqué sur le schéma) ?

3 – Quels seraient les produits obtenus après une méthylation suivie d'hydrolyse acide du trisaccharide G ?

EXERCICE II

La dégradation cellulaire des glucides fait apparaître de nombreux sucres phosphorylés comme intermédiaires métaboliques. Les deux groupes OH ionisables du phosphate de l'ester monophosphate du ribose (ribose 5-phosphate) ont comme pK_A : 1,2 et 6,6. La forme entièrement protonnée de l' α -D ribose 5-phosphate est la suivante :



1 - Écrire les différentes espèces ioniques formées lors du titrage de ce sucre phosphorylé quand on fait varier le pH de 0 à 10

2 - Quelle est la forme ionique prédominante de ce composé à pH physiologique ?

3 - Le ribose 5-phosphate serait-il un bon tampon physiologique pour les cellules ?

JUILLET 2010 –Second Semestre

QUESTIONS DE COURS

I – Acides Aminés - Protéines

1 –a - Les acides aminés sont reliés entre eux par une liaison chimique pour former une protéine. S'agit-il d'une liaison covalente, d'une liaison ionique ou d'une liaison hydrogène ?

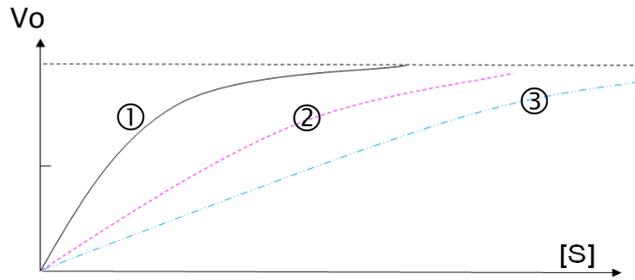
b - Comment les biochimistes appellent-ils cette liaison ?

2 - Pourquoi la liaison peptidique est-elle plane ?

3 – Citez un agent capable d'hydrolyser la liaison peptidique ? Cet agent est-il spécifique ou non ? Si oui, quelle est sa spécificité ?

II - Enzymologie

Sachant que V_0 représente la vitesse initiale en fonction de la concentration en substrat pour une réaction enzymatique effectuée dans trois conditions : en absence d'inhibiteur, en présence d'un inhibiteur I à deux concentrations $[I_1] > [I_2]$, déduire de la représentation ci-dessous le type d'inhibiteur considéré. Justifier votre réponse.



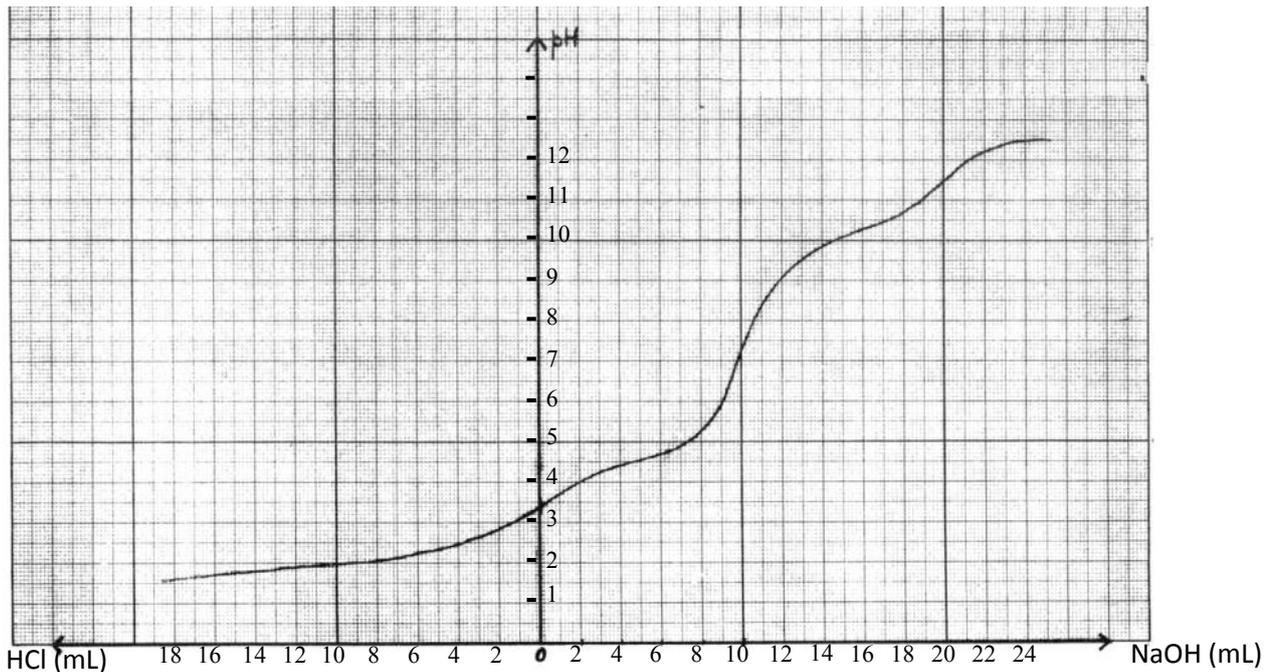
Donner la formule de Michaelis correspondant à ce type d'inhibition. Préciser les relations existant entre les constantes caractéristiques de la cinétique enzymatique en absence et en présence d'inhibiteur.

III – Acides nucléiques

- 1 – a - Définir l'hyperchromicité d'un acide nucléique ?
 B - Quand ce phénomène peut-il se produire ?
 c - Ce phénomène est-il réversible ? Si oui, donner un exemple, si non, pourquoi ?
- 2 – Quelles sont les liaisons trouvées dans les acides nucléiques ?

EXERCICE I

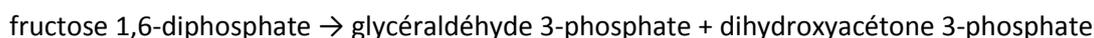
Le graphique suivant représente le titrage de 20 mL d'une solution d'acide glutamique par une solution d'HCl 0,1 N d'une part, et d'autre part par une solution de NaOH 0,1N.



- 1 – Donner la formule du zwitterion de l'acide glutamique
- 2 – Quelle est la valeur de son pH_i ?
- 3 – Préciser les fonctions qui seront mises en évidence lors des titrages par HCl et NaOH.
- 4 – Déterminer tous les points de neutralisation ? Comment avez-vous procédé ?
- 5 – Noter sur le graphique les valeurs des abscisses des points précédemment déterminés.
- 6 – En déduire le titre de la solution initiale de l'acide glutamique
- 7 – Déterminez les pK (en expliquant comment vous avez fait) et notez sur le graphique les valeurs trouvées.
- 8 – Tracer sur le graphique une ligne parallèle à celle des pH et y déterminer les différents domaines de prédominance de l'acide glutamique en fonction du pH.

EXERCICE II

L'aldolase est une enzyme catalysant l'hydrolyse du fructose 1,6-diphosphate :



On dispose d'un sérum humain contenant deux aldolases d'origine tissulaire différente, l'une H d'origine hépatique, l'autre, M d'origine musculaire. Afin d'en déterminer les paramètres cinétiques, on étudie les variations de la vitesse de la réaction, c'est-à-dire l'apparition du nombre de moles de glycéraldéhyde 3-phosphate en une minute en fonction de la concentration en fructose 1,6-diphosphate. Les résultats sont les suivants :

	[fructose 1,6-diphosphate]*	$0,25 \cdot 10^{-3}$	$0,33 \cdot 10^{-3}$	$0,5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$
	1/[fructose 1,6-diphosphate]	4000	3030	2000	1000
Aldolase M	Nombre de moles de glycéraldéhyde 3-phosphate en 1 mn	$0,60 \cdot 10^{-3}$	$0,72 \cdot 10^{-3}$	$0,87 \cdot 10^{-3}$	$1,11 \cdot 10^{-3}$
	1/ N moles glycéraldéhyde 3-phosphate en 1 mn	1667	1389	1149	900
Aldolase H	Nombre de moles de glycéraldéhyde 3-phosphate en 1 mn	$0,20 \cdot 10^{-3}$	$0,25 \cdot 10^{-3}$	$0,33 \cdot 10^{-3}$	$0,50 \cdot 10^{-3}$
	1/ N moles glycéraldéhyde 3-phosphate en 1 mn	5000	4000	3030	2000

*Les concentrations sont exprimées de [fructose 1,6-diphosphate] en M

1 – Tracer les courbes $V = f([S])$ pour les 2 enzymes (en utilisant 1 cm pour 10^{-4} M et 1 cm pour 10^{-4} mole.min⁻¹).

En déduire V_{\max} et K_M pour les 2 enzymes. Justifier.

2 – Tracer les représentations de Lineweaver-Burk pour ces 2 enzymes (en utilisant 1cm pour 500 M^{-1} et 1 cm pour $500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

En réduire à nouveau V_{\max} et K_M pour les 2 enzymes. Justifier.

3 – Comparer les résultats obtenus par les 2 méthodes. Conclusion ?

4 – Comparer les affinités des 2 aldolases vis-à-vis du fructose 1,6-diphosphate.

Novembre 2010

1 – Qu'est-ce qu'une liaison hydrogène ?

Dessinez deux exemples de molécules reliées par au moins une liaison hydrogène.

2 – Considérons une solution d'acide :



Etablir, à partir de l'expression de la constante de dissociation (K_A), l'équation d'Henderson-Hasselbach (donnant le pH de la solution en fonction de la concentration des espèces ioniques).

3 – En quoi diffèrent 2 molécules épimères ? Dessinez 2 molécules présentant cette particularité et nommez-les.

4 – Dessinez le D-glucose et le D-fructose en projection de Fischer et en projection de Haworth. Donnez leur nom complet.

5 – A quoi sert une droite d'étalonnage ? Répondez succinctement en prenant l'exemple que vous avez vu en TP.

Exercice . Tous les résultats numériques doivent être justifiés par le détail des calculs

1°) À partir d'une solution mère de glucose de concentration $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, vous devez préparer une solution de concentration $0,05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ dans une fiole de 100 mL.

- Quel volume de la solution mère allez-vous prélever ?

- Quel est le facteur de dilution entre la solution mère et la solution fille ?

2°) À partir de cette solution, vous allez réaliser une gamme étalon qui vous permettra de doser le glucose dans une solution de concentration inconnue. Dans cinq tubes à essai, vous prélèverez cinq volumes compris entre 0 et 2 mL de la solution $0,05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Vous complèterez à 2 mL.

- Quelle sont la concentration et le facteur de dilution dans chaque tube ?

N° tube	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Volume prélevé (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8
Concentration (mg.mL ⁻¹)					
Facteur de dilution					

3°) Après avoir réalisé une réaction colorimétrique (comme vous avez réalisé en TP³), vous mesurez l'absorbance de ces différents tubes :

N° tube	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
Concentration (mg.mL ⁻¹)					
Absorbance	0	0,2	0,4	0,6	0,8

4°) Tracez une droite d'étalonnage avec les valeurs d'absorbance obtenues pour les tubes T₁ à T₅, en prenant en 1 cm = 0,001 mg.mL⁻¹ et 1 cm = 0,05 UA.

Déterminez à partir de cette droite ϵ de la molécule qui absorbe. Justifiez.

5°) Vous cherchez à déterminer la concentration de la solution X. Cette solution a une concentration comprise entre 0,5 et 1,5 mg.mL⁻¹. Vous allez faire une solution fille de cette solution en prélevant 1 mL dans une fiole de 20 mL.

Quel est le facteur de dilution ?

Puis vous faites 3 dilutions de X dans un volume final de 2 mL :

N° tube	X ₁	X ₂	X ₃
Volume prélevé (mL)	0,2	0,45	0,7

6°) L'absorbance a été mesurée pour ces 3 tubes et, par utilisation de la droite d'étalonnage, vous déterminerez la concentration des tubes X₁ à X₃.

N° tube	X ₁	X ₂	X ₃
Absorbance	0,15	0,35	0,55
Concentration (mg.mL ⁻¹)			

Concentration du tube X1 :

Concentration du tube X2 :

Concentration du tube X3 :

Quelle est la concentration de la solution fille de la solution X (détaillez vos calculs) ?

Quelle est la concentration de la solution mère de la solution X (détaillez vos calculs) ?

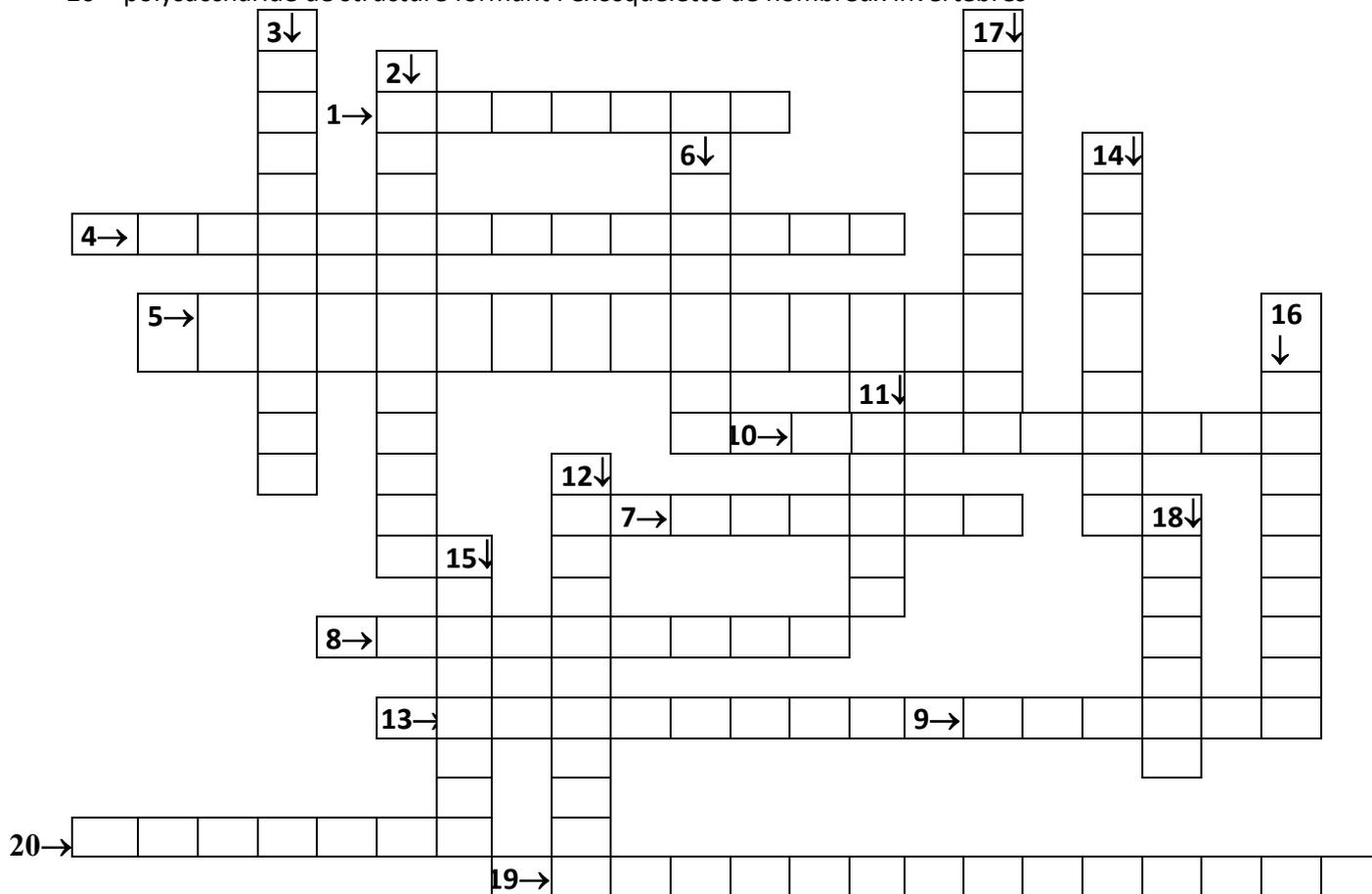
Janvier 2011

QUESTIONS DE COURS

- 1 – molécule entrant dans la composition de la lécithine et de certaines sphingomyélines
- 2 – lipide dont la formule présente 4 cycles, entrant dans la composition des membranes eucaryotes
- 3 – se dit d'une molécule qui possède une partie polaire et une partie apolaire
- 4 – lipides de stockage, présents dans le tissu adipeux
- 5 – acide à la base de tous les glycérophospholipides
- 6 – grande classe de molécules biologiques insolubles dans l'eau
- 7 – conformation spatiale la plus fréquente des aldohexoses
- 8 – organisation en bicouche adoptée par certains lipides en solution aqueuse
- 9 – ose dont la fonction carbonyle est nécessairement en position 2
- 10 – mélange équi-moléculaire de 2 formes énantiomères
- 11 – type de liaison qu'on ne retrouve que dans les sphingolipides parmi les lipides complexes
- 12 – acides produits lors de l'oxydation douce d'un aldose
- 13 – 2 structures ne différant entre elles que par la configuration spatiale d'un seul C asymétrique
- 14 – synonyme d'hydrophobe

³ On rajoute 5 mL de réactif pour la réaction, contenant l'enzyme et le chromogène réduit. Pour simplifier les calculs, on ne tiendra pas compte de ces 5 mL.

- 15 – organisation en monocouche adoptée par les détergents en solution dans l'eau
- 16 – autre nom de la phosphatidylcholine utilisée comme agent émulsifiant
- 17 – liaison faible existant entre 2 molécules polaires
- 18 – polysaccharide de stockage des cellules végétales
- 19 – cet indice représente le nombre de mg de potasse (KOH) nécessaire à l'hydrolyse d'1g de lipide
- 20 – polysaccharide de structure formant l'exosquelette de nombreux invertébrés

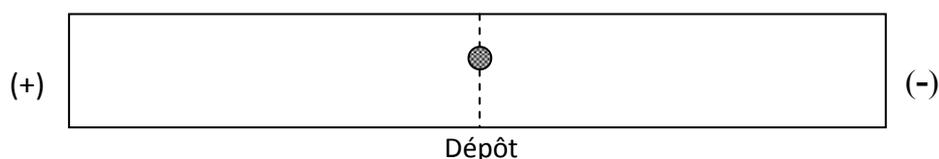


Exercice 1 : ÉLECTROPHORÈSE DE LIPIDES

L'électrophorèse d'un mélange de lipides est réalisée à pH 7. Ce mélange est formé d'un :

- phosphatidylglycérol (A)
- phosphatidyléthanolamine (B)
- triglycéride (stéarooléopalmitine) (C)

- 1 – Donner le principe de l'électrophorèse
- 2 – Écrire les formules de A, B et C à pH7
- 3 – Représenter l'électrophorégramme attendu en plaçant l'anode et la cathode (écrire anode et cathode) et justifier la migration des différents composés



Exercice 2 : DETERMINATION DE LA STRUCTURE D'UN GLUCIDE

En 1983, contrairement à ce qui était décrit jusqu'alors un polysaccharide a été extrait de la carotte et remettait en cause la théorie selon laquelle les seuls sucres présents dans cette racine étaient le fructose, le glucose et le saccharose (Goris A., *Qual Plant Plant Foods Hum Nutr* 33 (1983) 87-89)

- 1- Ce nouveau polysaccharide qui est appelé umbelliférose n'est pas réducteur.
Conclusions ?
- 2- Un traitement par une α -galactosidase permet la libération de saccharose et d'un monosaccharide.
Définir la structure du saccharose.
Conclusions ?
- 3- Un traitement de l'umbelliférose par de l'iodure de méthyle (ICH_3) suivie d'une hydrolyse acide permet d'identifier 3 monosaccharides en concentrations équimolaires : le 3, 4, 6-triméthyle glucose, le 1,3,4,6-tétraméthyle fructose et le 2,3,4,6 tétraméthyle galactose.
Écrire la formule des oses méthylés obtenus.
Conclusion sur la structure de l'umbelliférose ?
Nom systématique ?

Régime dérogatoire janvier 2011

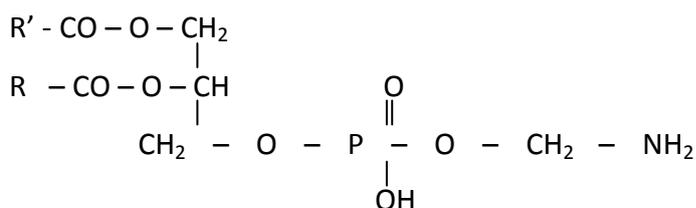
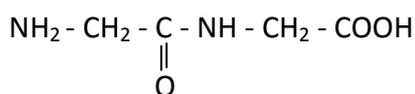
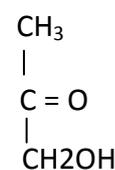
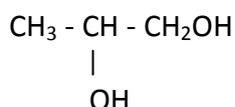
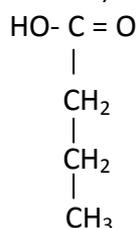
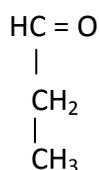
Questions de cours

- 1 - Quels sont les constituants majeurs des membranes biologiques ?
- 2 – Après avoir défini le terme énantiomère, donner un exemple (nom et formule).
- 3 – En utilisant le glucose et le fructose, dessinez le passage de la molécule linéaire à la molécule cyclique.
Donner les noms complets des molécules.
- 4 – Dessinez une phosphatidyléthanolamine. Préciser les molécules simples à partir desquelles cette molécule complexe est construite et les différents types de liaisons impliqués.

Données : éthanolamine $\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{NH}_2$

Exercice 1. Fonctions chimiques

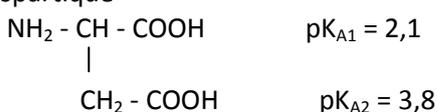
Sur les molécules suivantes, indiquez les fonctions suivantes (vous pointerez une flèche sur la fonction et mettez la lettre correspondante)



- | | | | |
|---------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------|
| A fonction aldéhyde | C fonction acide carboxylique | E fonction alcool secondaire | G fonction amide |
| B fonction cétone | D fonction alcool primaire | F fonction amine | H fonction ester |

Exercice 2 Domaines de prédominance

Acide aspartique



- Donner les domaines de prédominance de l'acide aspartique en fonction du pH
- Donner la forme prédominante en solution dans l'eau. Justifier.

Exercice 3. Concentration d'une solution de glucose

1 mL d'une solution de glucose est dilué au 1/10ème, puis 200 µL de cette solution sont déposés dans une cuve de spectrophotomètre contenant 1,8 mL de tampon, du chromogène et de l'enzyme nécessaire à la réaction colorimétrique (vue en TP). L'absorbance mesurée après incubation est de 0,280.

Connaissant le coefficient d'absorbance ($\epsilon = 5600 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), déterminer la concentration de la solution de départ.

Mars 2011

Questions de cours

1 - Quelle relation relie le pH d'une solution d'une molécule acido-basique et le pK de cette molécule (nom de la relation et équation) ?

2 – Citez un acide aminé (nom, code à 3 lettres, code à une lettre et formule) pour chacune des catégories suivantes :

- Acide aminé basique
- Acide aminé aromatique
- Acide aminé hydrophobe
- Acide aminé à fonction alcool

3 – Les acides aminés sont reliés entre eux par une liaison chimique pour former une protéine.

Quelle est cette liaison ?

Dessinez un tripeptide en identifiant clairement la ou les liaisons nécessaires et en indiquant clairement l'extrémité C- et l'extrémité N-.

4 – Quelle est la différence entre une électrophorèse sur couche mince et une électrophorèse sur gel de polyacrylamide ? Application dans le cas des protéines.

Qu'est-ce que le SDS ?

A quoi sert-il lors d'une SDS-PAGE ?

5 – Quel est le nom du réactif utilisé en TP pour colorer les acides aminés ?

Exercice 1 : Domaines de prédominance et électrophorèse

On réalise l'électrophorèse à pH = 7 d'un mélange constitué par les acides aminés suivants : tyrosine, asparagine, acide aspartique, lysine et histidine.

1°) Donner les domaines de prédominance de chaque acide aminé en fonction du pH. Vous considérerez que la fonction carboxylique commune à tous les acides aminés a un pK_a voisin de 2 et que la fonction amine en α a un pK_a aux environs de 9,5.

- Tyrosine
- Asparagine
- Lysine
- Histidine
- Acide Aspartique

2°) Calculer le pI de chaque acide aminé. Justifier

3°) Représenter schématiquement l'électrophorogramme obtenu (placer anode et cathode).

Exercice 2 : Structure primaire d'un peptide

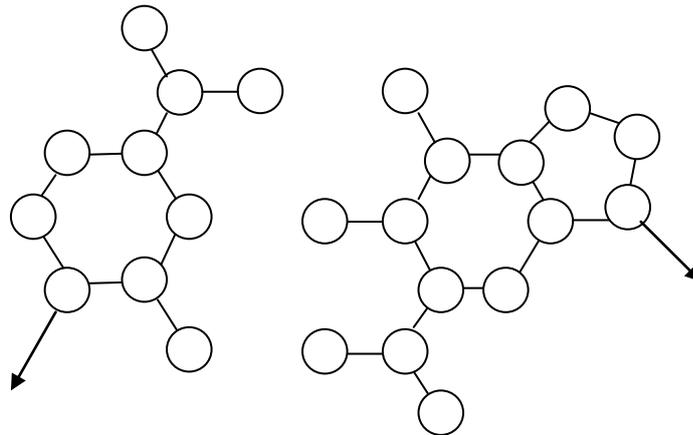
Pour déterminer la structure primaire d'un hexapeptide P, on réalise les expériences suivantes. Pour chacune d'entre elles, vous préciserez clairement le rôle de chacun des réactifs et indiquerez les conclusions que l'on peut tirer du résultat obtenu :

- 1 : L'action ménagée d'une aminopeptidase libère Leu.
 - 2 : Une hydrolyse acide totale libère Leu, Glu, Arg, Met, Ile
 - 3 : La chymotrypsine est sans action sur P
 - 4 : L'action de la trypsine libère deux tripeptides
 - 5 : L'action du bromure de cyanogène libère un tétrapeptide (P1) et un dipeptide (P2). P2 absorbe la lumière à 280 nm et l'action d'une aminopeptidase sur P2 libère Ile.
 - 6 : Quelle est la séquence du peptide P ? Quelle(s) expérience(s) proposez-vous pour lever l'ambiguïté?
-
-

Mai 2011

Questions de cours

- 1 Quelle est différence d'action de la soude sur une molécule d'ADN et sur une molécule d'ARN ? Pourquoi ?
- 2 Quelles sont les spécificités d'une enzyme de restriction ?
- 3 La figure ci-dessous représente une base pyrimidique associée à sa base purique habituelle. Compléter la figure
 - en inscrivant dans chaque cercle le symbole de chaque atome de la molécule
 - en donnant le nom des bases ici représentées
 - en numérotant les atomes de cycles
 - en plaçant les doubles liaisons
 - en indiquant en pointillé les liaisons H
 - en ajoutant les sucres (à l'endroit des flèches) et en numérotant les atomes des sucres
 - en ajoutant les phosphates



- 4 Où retrouve-t-on généralement les résidus d'acides aminés à chaîne latérale hydrophobe : dans la partie central ou sur la périphérie d'une protéine globulaire ? Justifier.
- 5 Que peut-on déduire d'une électrophorèse de protéines dans un gel en présence de dodécylsulfate de sodium ?
- 6 Etablir l'équation de Michaelis-Menten dans le cas d'une inhibition compétitive en précisant le cas échéant les relations existant entre les caractéristiques cinétiques (K_M et K'_M ; V_{max} et V'_{max})

Exercice 1 : Acides nucléiques

La composition d'un des deux brins d'ADN est A = 27 % et G = 22 %.

Que peut-on dire des pourcentages de T et de C pour le même brin ?

Quel est le pourcentage des 4 bases pour l'autre brin ?

Exercice 2 : Détermination d'un pentapeptide cérébral : la leucine-encéphaline

Certains peptides qui influencent la transmission nerveuse dans certaines parties du cerveau ont été isolés à partir de cerveaux sains. Ces peptides sont connus comme « opioïdes » parce qu'ils se fixent sur les récepteurs spécifiques de molécules opiacées telles que la morphine. Les opioïdes miment effectivement certaines propriétés des opiacées. Ces peptides interviennent dans l'analgésie et dans la modulation de la réponse immunitaire.

En utilisant les informations ci-dessous, déterminez la séquence de la leucine-encéphaline. Pour chacune des expériences utilisées, vous **préciserez clairement le rôle de chacun des réactifs** et indiquerez les conclusions que l'on peut tirer du résultat obtenu :

- 1°) Une hydrolyse acide totale libère Gly, Leu, Phe et Tyr dans des proportions 2/1/1/1.
- 2°) Le traitement ménagé du peptide avec du PITC met en évidence du PTH-Tyr.
- 3°) L'action ménagée de la carboxypeptidase libère une Leu.
- 4°) La digestion du peptide par la chymotrypsine libère deux acides aminés différents et un tripeptide.

Exercice 3 : Enzymologie

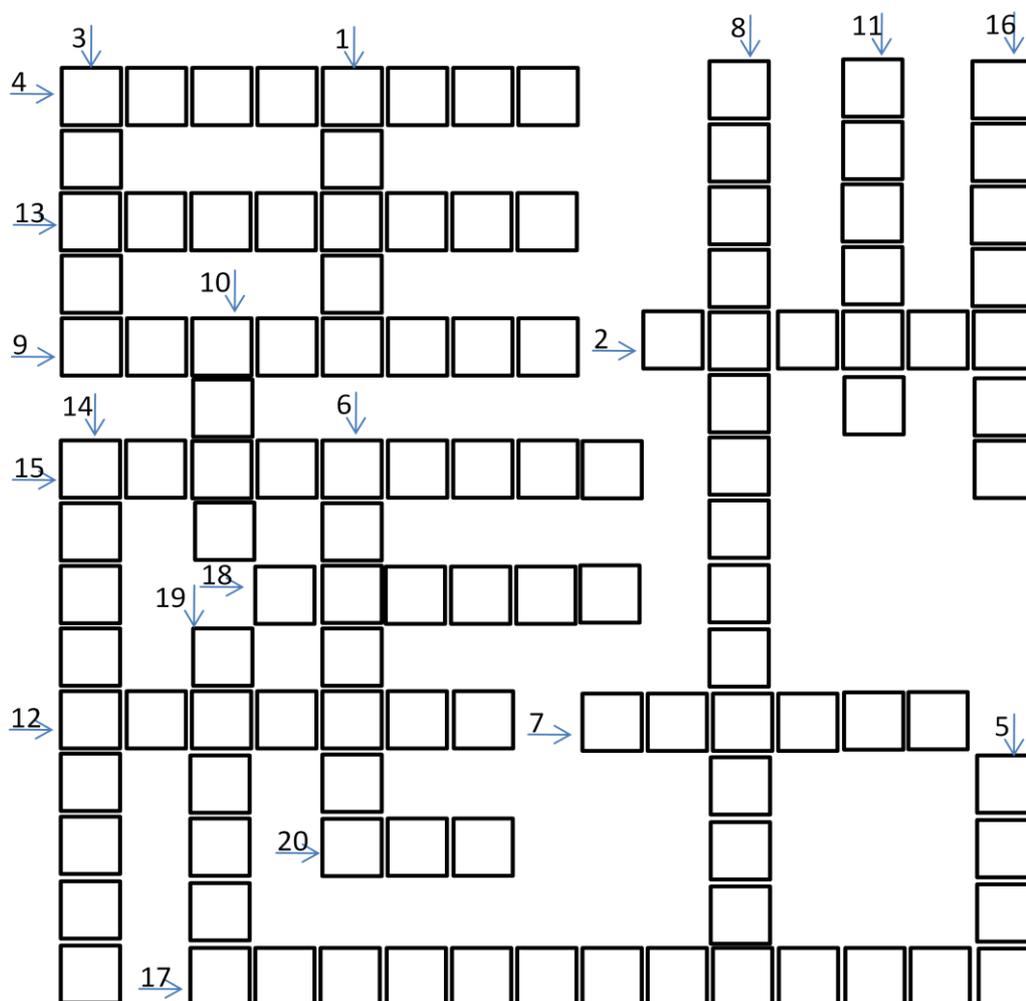
En présence de dibutyl-phthalate, l'activité de la β -glucosidase est inhibée de manière non-compétitive et les résultats suivant sont obtenus :

V_i ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	0,05	0,121	0,3	0,54	0,8	0,9
[substrat] μM	1	2,26	5	8	15	18

Quel(s) paramètre(s) caractéristique(s) de l'enzyme va/vont être modifié(s) par la présence de cet inhibiteur ? Justifier votre réponse.

- 1- Quel(s) paramètre(s) caractéristique(s) de l'enzyme va/vont être modifié(s) par la présence de cet inhibiteur ? Justifier votre réponse.
- 2- A partir de valeurs présentées dans le tableau, quel graphique choisirez-vous de tracer pour obtenir les résultats les plus précis possible ? Justifier votre réponse.
- 3- Faites le schéma rapide du graphique choisi, en y faisant aussi figurer la courbe théorique de l'activité de l'enzyme en absence de dibutyl-phthalate.
- 4- Si l'on se place à une concentration de substrat égale au K_M de l'enzyme, quel est le pourcentage de sites actifs de l'enzyme qui seront occupés par le substrat ? même question en présence de dibutyl-phthalate ?

Année 2010-2011 - Session 2 – Premier semestre



- 1- Donneur de proton
- 2- Polysaccharide de stockage des cellules végétales
- 3- Pôle positif au cours d'une électrophorèse
- 4- Synonyme d'hydrophobe
- 5- Accepteur de protons

- 6- Attire les cations
- 7- Conformation spatiale la plus fréquente des aldohexoses
- 8- Ensemble de techniques qui cherchent à séparer les molécules d'un mélange en fonction de leur différence d'adsorption entre une phase stationnaire et une phase mobile
- 9- Deux structures ne différant entre elles que par la configuration spatiale d'un seul centre d'asymétrie moléculaire dans une molécule qui en contient plusieurs
- 10- Indice permettant d'identifier le nombre d'insaturations dans les lipides
- 11- Grande classe de molécules biologiques insolubles dans l'eau
- 12- Epimère en 2 du glucose
- 13- Liaison hydrolysable en milieu acide et par des osidases
- 14- Un mélange équimoléculaire des deux formes énantiomères
- 15- Se dit d'un ose possédant un OH hémiacétalique libre
- 16- Synthétisé à partir du carotène, c'est un pigment indispensable à la vision
- 17- Technique de mesure basée sur la loi de Beer-Lambert
- 18- Noyau caractéristique des stéroïdes
- 19- Essentielles pour définir les axes des abscisses et ordonnées sur un graphique
- 20- Liquide indispensable à la vie

Exercice 1

1. Le stachyose est un oligosaccharide non-réducteur présent naturellement dans plusieurs légumes (haricots verts, graines de soja et autres graines) et plantes.

Conclusions ?

2. Après traitement par l'iodure de méthyle (ICH₃) suivie d'une hydrolyse acide, 4 monosaccharides sont identifiés : le 2, 3, 4-triméthyle glucose, le 1,3,4,6-tétraméthyle fructose, 2,3,4,6-tétraméthyle galactose et le 2,3,4-triméthyle galactose.

Conclusions ?

3. Un traitement par une β -fructosidase libère du fructose et un tri-saccharide.

Un traitement par une α -galactosidase libère du galactose et un saccharose.

Quelle est la structure du stachyose ?

4. Quel est son nom systématique ?

Exercice 2

À partir de soja, une lécithine est isolée.

1. Quelle est la structure générale d'une lécithine ? Commentez cette structure.

L'action d'une phospholipase spécifique de l'ester carboxylique de l'alcool primaire libère un acide gras ne fixant pas l'iode et possédant une chaîne à 16 carbones.

2. Conclusions ?

L'action d'une autre phospholipase libère un autre acide gras dont une mole est capable de lier 2 moles de diiode. Par ailleurs, l'analyse montre que la chaîne de cet acide gras est en C18.

3. Quel est le nom de cet acide gras ? Quel site/liaison spécifique doit reconnaître la phospholipase pour libérer uniquement cet acide gras de la lécithine ?

Année 2010-2011 - Session 2 – Deuxième semestre

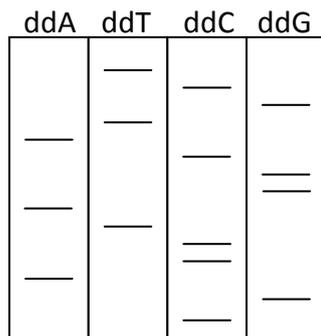
Questions de cours

- 1 On hydrolyse complètement un polynucléotide et on en fait l'analyse. Les premiers résultats montrent la présence d'un seul type d'ose. De plus, parmi les bases identifiées, on note particulièrement la présence de cytosine et d'uracile.
 - De quel type d'acide nucléique s'agit-il ?
 - Quels sont les autres constituants de ce polynucléotide ?

- Donnez le nom et la formule (représentation de Haworth) de l'ose identifié. Cet acide nucléique est-il généralement mono- ou bi-caténaire ?
- 2 Parmi ces trois molécules (ribose, désoxyribose, didésoxyribose), une seule n'est retrouvée chez aucun être vivant comme élément constitutif des acides nucléiques. Laquelle, et pourquoi ?
 - 3 Présenter l'histidine sous sa forme zwitterionique et calculer le pHi (les 3 pKA de l'histidine sont 1.8 ; 6.0 ; et 9.2). Justifier.
 - 4 Ecrire les réactions et équations de base décrivant la catalyse enzymatique où S → P en définissant tous les termes.
- 5

Exercice 1 : Acides nucléiques

La technique de Sanger a été utilisée pour déterminer la séquence d'un brin d'ADN X. L'autoradiographie obtenue est la suivante :



- 1 - Donner brièvement le principe de cette méthode.
- 2 - Préciser les positions de l'anode et de la cathode (écrire **anode** et **cathode** sur l'autoradiogramme).
- 3 - Déterminer la séquence du brin d'ADN X et préciser où se trouvent l'extrémité 3' et l'extrémité 5' de cette séquence.
- 4 - Après avoir écrit la séquence de l'ADN double brin correspondant, indiquer si cette séquence renferme un palindrome. Justifier.

Exercice 2 : Enzymologie

L'activité de la malate déshydrogénase est mesurée dans un tampon à pH = 7,6, par spectrophotométrie en présence de différentes concentrations de son substrat, le NADH, à 25°C. Dans cette expérience, c'est le produit qui absorbe.

Les résultats suivants sont obtenus :

absorbance	0,08	0,2	0,42	0,65	0,8	0,83
[NADH] μM	0,1	0,25	0,5	2	5	10

- 1- Tracer et légendez correctement la courbe A = f([NADH]) en prenant comme échelle 1cm = 0.2 Unité d'absorbance et 1cm = 0,5μM
- 2- Quel nom est donné à ce graphique et quels paramètres permet-il de mesurer ?
- 3- Quel(s) est (sont) le ou les paramètre(s) essentiel(s) manquant pour reproduire correctement cette expérience ?
- 4- Quelle (s) expérience (s) proposez-vous pour palier ce manque ?
- 5- Comment peut-on transformer les valeurs d'absorbance obtenues en concentrations ?