

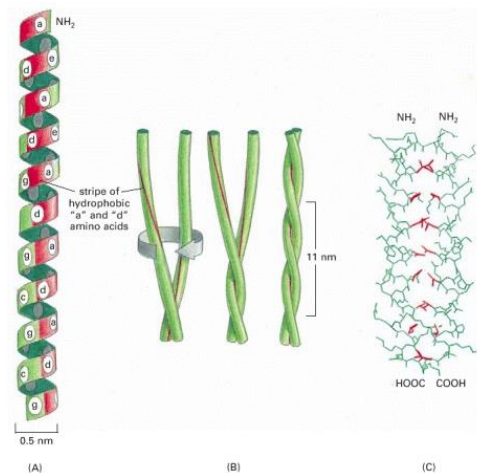
Exercices Biochimie I

Problèmes Leçon 1

1. A) Calculez le pH d'une solution 0.001 M HCl. B) Calculez la concentration de H^+ présent dans une solution d'acide acétique à pH 4.
2. Un acide avec un pK_a de 8.0 est à pH 7.0 en solution. Quel est le rapport des formes protonées et déprotonées de cet acide ? Quelle est le pourcentage de la forme protonée?
3. Dessinez les structures chimiques des acides aminés suivants au pH 7: alanine, thréonine, glutamate et arginine. Identifiez les donneurs et accepteurs de liaison hydrogène dans chaque molécule.
4. Dessinez les structures chimiques des acides aminés arginine et proline en configuration R et indiquez les centres chiraux.
5. Indiquez les codes à trois et une lettre ainsi que les charges nettes (à pH 7) des acides aminés suivants: aspartate, histidine, lysine, tryptophane et cystéine.
Exemple: Alanine : Ala, A, 0
6. Identifiez les acides aminés comportant une chaîne latérale pouvant former des liaisons électrostatiques avec la chaîne latérale de l'aspartate à pH 6.
7. Pour un acide aminé tel que l'isoleucine, l'espèce moléculaire majoritaire en solution à pH 7 est le zwitterion. En prenant une valeur de 8 pour le pK_a du groupe amine et de 3 pour l'acide carboxylique, estimez le rapport de la concentration de l'acide aminé neutre (avec l'acide carboxylique protoné et le groupe amine neutre) avec celui du zwitterion, présent à pH 7.

Problèmes Leçon 2

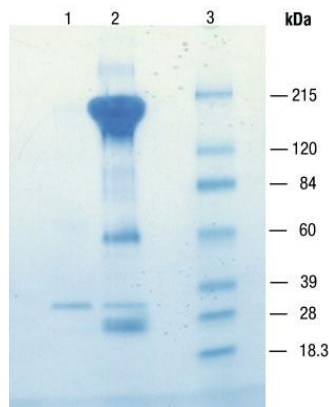
1. Dessinez la structure chimique du peptide suivant (choisissez l'état d'ionisation qu'on trouve au pH 7): Arg-Ile-Trp-Asp.
2. Une protéine de 120 kDa, est constituée de deux brins enroulés l'un autour de l'autre formant une structure en hélice α . Quelle est la longueur de cette molécule ?



3. Dessinez la structure chimique du di-peptide "Ala-Pro" avec la proline en conformation 'trans'.
4. Une protéine avec la structure primaire suivante: Met-Leu-Gln-Ala-Ala-Cys-Glu-Lys-Gln-His-Leu-Ala-Leu-Gln-Ala a-t-elle plutôt une structure secondaire en hélice α , feuillet plissé β ou coudes ?
5. Cherchez les structures 3D des protéines suivantes dans la base de données [RCSB Protein Data Bank](http://www.rcsb.org) (www.rcsb.org) et assignez quels types de structures secondaires figurent dans ces protéines : lysozyme, protéine fluorescente verte, myoglobine et calmoduline.

Problèmes Leçon 3

1. L'absorbance est reliée au coefficient d'absorption molaire (coefficient d'extinction) ϵ (en $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$) à la concentration c (en M) et au trajet optique l (en cm) par la relation $A = \epsilon lc$
Le coefficient d'absorption molaire de la myoglobine (masse moléculaire = 16.7 kDa) à 580 nm a une valeur de $15000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Quelle est l'absorbance d'une solution à 2 mg/ml pour un trajet optique de 1 cm ? Quel est le pourcentage de lumière incidente transmis par cette solution ?
2. La mobilité électrophorétique relative d'une protéine de 30 kDa et celle d'une protéine de 82 kDa utilisées comme standards sur un gel de SDS-polyacrylamide sont de 0.9 et 0.41 respectivement. Quelle est la masse apparente d'une protéine ayant sur ce gel une mobilité de 0.84 ?
3. Les protéines myoglobine, ovalbumine et anhydrase carbonique sont mélangées dans une solution et doivent être séparées. Proposez une méthode de séparation et expliquez la.
4. Quelques échantillons de protéine ont été analysés par SDS-polyacrylamide. La photo suivante a été prise. Expliquez le résultat que vous voyez.



5. Vous êtes en possession d'une protéine purifiée. Vous voulez maintenant analyser le poids moléculaire de cette protéine. Proposez deux méthodes différentes pour mesurer la masse et expliquez les principes de ces deux méthodes.

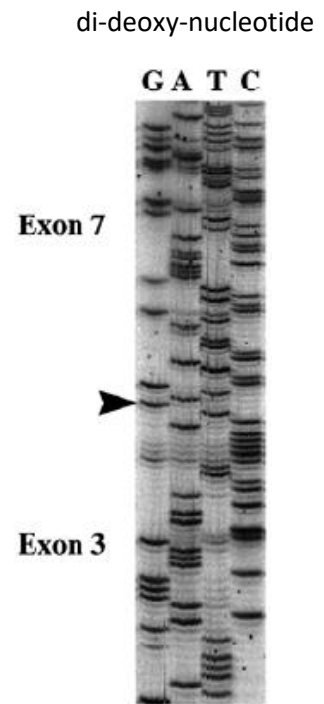
Problèmes Leçon 4

1. Ecrivez la séquence complémentaire (dans le sens 5'→3' [notation standard]) de (a) 5'-GTACT-3' et (b) 5'-CCTGCCCCGTA-3'.
2. Dessinez la structure chimique du di-nucléotide suivant: une adénosine liée par une liaison phosphodiester à une cytidine. Indiquez les positions des atomes dans le ribose (1', 2', 3', etc).
3. La composition (en unités de fraction molaire) de l'un des brins d'une molécule de DNA en double hélice est [A] = 0.2 et [G] = 0.3. (a) Que pouvez-vous dire de la composition de [T] et de [C] pour le même brin? (b) Que pouvez-vous dire de la composition de [A], [G], [T] et de [C] pour le brin complémentaire?
4. Une molécule de DNA (double brins) a une longueur de 80 nm. Combien de paires de base y-a-t-il ?
5. Dessinez les structures chimiques des deux bases adénine et thymine. Si les deux bases étaient positionnés face-à-face dans une double hélice, est-ce qu'elles pourraient former des liaisons hydrogènes?
6. Quels sont les types d'interactions moléculaires qu'on trouve dans une double hélice de DNA (par exemple interactions ioniques, etc.)?
7. Dessinez les structures chimiques des deux bases guanine et cytosine ainsi que les interactions Watson-Crick (= liaisons hydrogène).

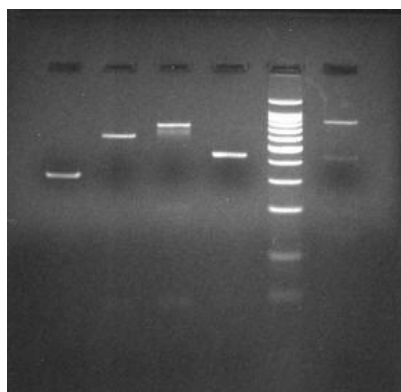
Problèmes Leçon 5

1. L'autoradiogramme d'un gel de séquençage contenant quatre pistes de fragments d'un brin de DNA est représenté dans l'illustration ci-contre. Quel est la séquence du brin de DNA ? Indiquez la séquence en direction 5'→3'

2. L'enzyme de restriction EcoRI coupe au niveau de la séquence 5'-GAATTC-3'. Combien de fois un double brin de DNA composé de 10'000 paires de bases sera coupé en moyenne par cette enzyme? Supposez que ce double brin de DNA contient des proportions égales de A, G, C et T.



3. Si l'on fait une réaction de PCR avec 20 cycles en utilisant des amorces (primers) et une quantité de DNA cible de 0.1 ng, quelle est la quantité de produit que l'on peut espérer obtenir au maximum?
4. Cinq produits de réactions de PCR ont été séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose. Afin de déterminer la taille des produits obtenus, on a également fait migrer un 'marker' contenant des bouts de DNA de tailles suivantes: 100, 200, 300, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 4000, 5000 et 10000 paires de bases. Quelle est la taille des brins de DNA obtenus après PCR?



Problèmes Leçon 6

1. Etant donné la séquence de DNA procaryote suivante:

5'-ATTATTGACACCCCGGATGCATTTAATGATTATAATGGATCCCATGAGCCTGTACGTATACCTATGATTAAGGAGGTTGA
CCTATGCGAGCTTTTAGTCCTCTAGTTAAGGTAGTA-3'

Cherchez et indiquez le site promoteur de la transcription et la séquence de Shine Dalgarno.

Ecrivez la séquence mRNA qui est transcrite ainsi que la séquence d'acides aminés qui est synthétisée.

Remarque: il n'y a pas de séquence de terminaison de transcription dans l'ADN spécifié.

2. Ecrivez la séquence d'acide aminé correspondant à la séquence de DNA suivante:

ATGGACGTATAGATGACAGGTAGATGTTTC

Donnez les 6 différents 'reading frames' possibles. Utilisez pour vous aider l'outil 'translate tool' disponible sur le site internet "ExPASy": <https://web.expasy.org/translate>

3. Quelles sont les différences entre DNA et RNA au niveau de i) la structure chimique, ii) les propriétés biophysiques (stabilité, structure secondaire) et iii) la fonction biologique?
4. Un scientifique aimerait copier et amplifier la séquence de DNA suivante par PCR. Proposez deux amorces ("forward" et "reverse": la longueur des amorces doit être d'environ 20 bases).

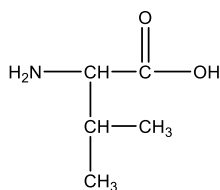
N'oubliez pas d'indiquer les bouts 5' et 3'.

```
1  atgagagccc  tgcgtggcgcg  cctgcttctc  tgcgtcctgg  tcgtgagcga  ctccaaaggc
61 agcaatgaac  ttcatacaagt  tccatcgaa  tgtgactgtc  taaatggagg  aacatgtgtg
121 tccaacaagt  acttctccaa  cattcactgg  tgcaactgcc  caaagaaatt  cggagggcag
181 cactgtgaaa  tagataagtc  aaaaacctgc  tatgagggga  atggtcactt  ttaccgagga
241 aaggccagca  ctgacaccat  gggccggccc  tgccctgccct  ggaactctgc  cactgtcctt
301 cagcaaactg  accatgcccc  cagatctgat  gctcttcagc  tgggcctggg  gaaacataat
361 tactgcagga  acccagacaa  ccggaggcga  ccctggtgct  atgtgcagg  gggcctaaag
421 ccgcttgctc  aagagtgcac  ggtgcatgac  tgccgagatg  gaaaaaagcc  ctccctctct
481 ccagaagaat  taaaatttca  gtgtggccaa  aagactctga  ggccccgctt  taagattatt
541 ggggggagaat  tcaccaccat  cgagaaccag  ccctggtttg  cgcccatcta  caggaggcac
601 cgggggggct  ctgtcaccta  cgtgtgtgga  ggcagcctca  tcagcccttg  ctgggtgatc
661 agcgccacac  actgcttcat  tgattacca  aagaaggagg  actacatcgt  ctacctgggt
721 cgctcaaggc  ttaactccaa  cagcaaggg  gagatgaagt  ttgaggtgga  aaacctcatc
781 ctacacaagg  actacagcgc  tgacacgctt  gctcaccaca  atgacattgc  cttgctgaag
841 atccgttcca  aggagggcag  gtgtgcgcag  ccatcccgga  ctatacagac  catctgcctg
901 ccctcgatgt  ataacgatcc  ccagtttggt  acaagctgtg  agatcactgg  ctttggaaaa
961 gagaatttca  ccgactatct  ctatccggag  cagctgaaaa  tgactgttgt  gaagctgatt
1021 tcccaccggg  agtgtcagca  gccccactac  tacggctctg  aagtcaccac  caaaatgctg
1081 tgtgctgctg  acccacagt  gaaaacagat  tcctgccagg  gagactcagg  gggacccctc
1141 gtctgttccc  tccaaggccg  catgactttg  actggaattg  tgagctgggg  ccgtggatgt
1201 gccctgaagg  acaagccagg  cgtctacacg  agagtctcac  acttcttacc  ctggatccgc
1261 agtcacacca  aggaagagaa  tggcctggcc  ctctga
```

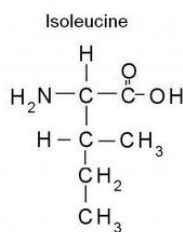
Problèmes Leçon 7

1. Les séquences des acides aminés des biomolécules sont plus conservées au cours de l'évolution que leurs séquences de ADN. Pourquoi ?
2. Un alignement des séquences d'acides aminés de deux protéines constituées chacune de 130 acides aminés révèle qu'elles ne sont identiques qu'à 12%. Cependant, leurs structures tridimensionnelles sont très semblables. Ces deux protéines sont-elles évolutivement apparentées ? Expliquez.
3. Trouvez grâce au site internet du Centre National d'Information sur les Biotechnologies (www.ncbi.nlm.nih.gov), la séquence de l'enzyme "triose-phosphate isomerase" exprimée dans *E.coli*. Combien d'acide aminé la protéine contient-elle? Utilisez cette séquence comme requête dans une recherche BLAST protéine-protéine. Dans la liste des résultats, cherchez l'alignement avec la séquence de la "triose phosphate isomérase" humaine (*Homo Sapiens*). Quel pourcentage d'identité y a-t-il dans l'alignement?
4. Un scientifique veut créer un répertoire de peptides par synthèse en phase solide. Tous les peptides doivent avoir une longueur de 8 acides aminés. Combien de combinaisons sont possibles si les 20 acides aminés existants sont utilisés à chacune des 8 positions? Combien de gramme de peptides au total doit-il préparer si chaque séquence de peptide est représentée une fois?
5. Donnez 3 exemples de "mutations conservatrices" pour chacun des acides aminés suivants : glutamate, asparagine, tyrosine. Dessinez les structures moléculaires de ces acides aminés et expliquez votre choix.

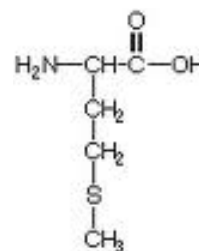
Exemple: pour la leucine:



Valine



Isoleucine



Methionine

Ces trois acides aminés possèdent tous une chaîne latérale aliphatique telle que la leucine.

Problèmes Leçon 8

1. Supposez que vous êtes en train d'escalader une haute montagne et que la pression partielle de l'oxygène de l'air est réduite à 75 torr. Estimez le pourcentage de la capacité de transport de l'oxygène qui sera utilisée, en supposant que le pH des tissus et des poumons est de 7.4 et que la pression partielle de l'oxygène dans les tissus est de 22 torr.
2. Quelles sont les différences entre l'hémoglobine et la myoglobine au niveau de i) la structure, ii) la fonction et iii) l'interaction avec l'oxygène ?
3. Expliquez les mécanismes moléculaires dans la fixation d'oxygène par l'hémoglobine qui sont responsable pour la coopérativité.
4. Nommez deux conditions changeant drastiquement si l'on se trouve dans les poumons ou dans les tissus et permettant ainsi le transport de l'oxygène (par l'hémoglobine) des poumons aux tissus.

Exemple: Au niveau des poumons le pH est de 7.4 permettant ainsi la fixation de l'oxygène sur l'hémoglobine. Au niveau des tissus le pH est de 7.2 diminuant considérablement l'affinité de l'oxygène pour l'hémoglobine et permettant ainsi son relâchement.

5. Dessinez schématiquement un anticorps avec ses différents domaines ainsi que les ponts disulfures. Indiquez les régions importantes pour la fonction d'un anticorps et expliquez ces fonctions.

Problèmes Leçon 9

1. Les concentrations d'un réactif A et d'un produit B d'une réaction enzymatique ($A \rightleftharpoons B$) sont respectivement 3×10^{-4} M et 10^{-6} M. Le ΔG° de cette réaction est de $1.8 \text{ kcal mol}^{-1}$. Calculez le ΔG de cette réaction et prédire dans quelle direction la réaction se produira-t-elle. Quelles seront les concentrations de A et de B à l'équilibre? Que peut-on dire de la vitesse de cette réaction ?
2. La pénicilline est hydrolysée, et par conséquent rendue inactive, par la pénicillinase (appelée également beta-lactamase) qui est une enzyme présente dans certaines bactéries résistantes. Le poids moléculaire de cette enzyme (venant de *Staphylococcus aureus*) est de 29.6 kDa. La quantité de pénicilline hydrolysée par minute dans une solution de 3 ml contenant 10^{-9} g de pénicillinase purifiée a été déterminée comme étant une fonction de la concentration de pénicilline. On admet que la concentration de pénicilline ne change pas de façon considérable lors du dosage.

Pénicilline (μM)	Quantité hydrolysée (nanomoles)
1	0.22
3	0.5
5	0.68
10	0.9
30	1.16
50	1.22

- (a) Construisez la courbe $1/V_0$ en fonction de $1/[S]$ à partir des ces données. La pénicillinase semble-t-elle obéir à la cinétique de Michaelis-Menten ? Si oui, quelle est la valeur de K_M ?
- (b) Quelle est la valeur de $V_{\max}$?
- (c) Quelle est le "turnover" ($= k_{\text{cat}}$) de la pénicillinase dans ces conditions expérimentales ? On admet qu'il n'y a qu'un site actif par molécule d'enzyme.

Problèmes Leçon 10

1. La cinétique d'une enzyme a été déterminée comme étant une fonction de la concentration en substrat en l'absence ou en présence d'un inhibiteur (I) à la concentration de 2 mM.

Substrat (μM)	Vitesse ($\mu\text{mol}/\text{minute}$)	
	Sans inhibiteur	Avec inhibiteur
6	5.2	2.05
10	7.25	3.2
20	11.25	5.6
60	16.9	11.3
180	20.25	16.9

- (a) Quelles sont les valeurs de V_{max} ?
- (b) De quel type d'inhibition s'agit-il ?
2. L'anhydrase carbonique a besoin un ion zinc pour catalyser la réaction d'hydratation
- (a) Comment est-ce que l'ion zinc est fixé à la protéine?
- (b) Comment le zinc peut-il faciliter l'hydratation du CO_2 ?
3. Pour la hydrolyse de DNA catalysé par des enzyme de restriction on peut s'imaginer deux mécanismes de réaction: (1) hydrolyse directe ou (2) intermédiaire covalente.
- (a) Dessinez les réactions pour les deux mécanismes.
- (b) Proposez une expérience pour vérifier le mécanisme.
4. Dessinez les formules chimiques des acides aminés "sérine, histidine et aspartate" dans leurs états à pH 7.4 (état protoné/déprotoné). Dessinez ensuite une triade catalytique composée de "aspartate-histidine-sérine" au même pH.

Problèmes Leçon 11

1. Dessinez la structure d'un acide gras à 14 carbones dans ses formes (a) saturée, (b) mono-insaturée trans et (c) mono-insaturée cis. Nommez des propriétés différentes entre acides gras saturé et insaturé.
2. Les lipides peuvent former des feuilletts bimoléculaires en milieu aqueux. Expliquez quelles sont les forces permettant la formation des feuilletts.
3. Bien que les protéines effectuent rarement, voir jamais, un "flip-flop" dans une membrane, la distribution des lipides membranaires entre les feuilletts de la membrane n'est pas absolument stable, sauf dans le cas des glycolipides. Pourquoi les lipides glycosylés effectuent-ils moins facilement des "flip-flop"?
4. Dessinez les structures chimiques du D-galactose et de l'β-D- galactopyranose avec la stéréochimie correcte.
5. Expliquez les expressions/molécules suivantes:
 - (a) Carbon anomérique
 - (b) Cetose
 - (c) Glycogen

Problèmes Leçon 12

1. Considérez la réaction suivante : $\text{ATP} + \text{pyruvate} \rightleftharpoons \text{phosphoénolpyruvate} + \text{ADP}$

(a) Calculez le ΔG° et le K'_{eq} à 25 °C de cette réaction, en utilisant les valeurs suivantes:

Composé	Energie libre standard d'hydrolyse (kJmol ⁻¹)
phosphoénolpyruvate	-61.9
ATP (vers ADP)	-30.5

(b) Quel est à l'équilibre le rapport "pyruvate/ phosphoénolpyruvate" si le rapport "ATP/ADP" est de 30?

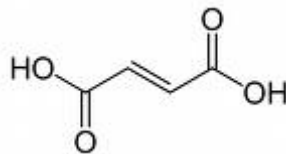
2. Calculez le ΔG° de l'isomérisation du glucose 6-phosphate en glucose 1-phosphate. Quel est le rapport, à l'équilibre, entre le glucose 6-phosphate et le glucose 1-phosphate, à 25°C?

Composé	Energie libre standard d'hydrolyse (kJmol ⁻¹)
Glucose 6-phosphate	-13.8
Glucose 1-phosphate	-20.9

3. Le pK_a d'un acide est une mesure de son potentiel de transfert de proton.

(a) Donnez une relation entre le ΔG° et le pK_a .

(b) Quel est le ΔG° de l'ionisation de l'acide maléique qui possède un pK_a de 6.3?



Dessinez les structures chimiques de l'ATP, FAD, NAD⁺ et CoA? Quelles sont les caractéristiques structurales communes?