

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents ne sont pas autorisés.

Numéro d'anonymat :

1-Dessinez la séquence du peptide Val-Asp-Lys-Phe-Arg, avec la formule **développée**, en mettant **en évidence** le squelette de la chaîne polypeptidique ainsi que les chaînes **latérales** des résidus. Donnez **la séquence** de ce polypeptide avec le code à **une lettre** des acides aminés.

2-Une solution à un pH de 7,6 renfermant les protéines suivantes, ovalbumine (pI : 4,6), collagène (pI : 6,6) et histone H3 (pI : 10,8) est déposée sur une colonne de diéthylaminoéthyl (DEAE) cellulose (échangeuse d'anions) équilibrée à un pH 7,6. La colonne est ensuite lavée avec un tampon à pH 7,6 puis avec un gradient décroissant de pH de 7,6 à 3,6. Proposer un ordre d'éluion de la colonne pour ces protéines. Justifier votre réponse ?

3-Citez le ou les **acide(s) aminé(s)** correspondant à chacune des propriétés suivantes :

- a. sa chaîne latérale possède un **atome de soufre**, mais pas de groupement **thiol**.
- b. possède un **groupement α aminé substitué**
- c. sa chaîne latérale est **aromatique et phosphorylable**.
- d. joue un rôle important dans le maintien de la structure des protéines par la capacité de sa **chaîne latérale à établir des liaisons covalentes réversibles par oxydoréduction**.
- e. est capable de **former des liaisons H** par l'intermédiaire de sa **chaîne latérale**.
- f. est capable de **former des liaisons ioniques** par l'intermédiaire de sa **chaîne latérale**.
- g. sa **chaîne latérale** contient une fonction **amide**.

4- Soient les **peptides suivants** :

(1) Val-Leu-Met-Tyr-Phe-Gly-Leu-Ala-Trp-Gly

(2) Ala-Val-Glu-Ala-Leu-Arg-Ile-Val-Glu-Ser

- a. **Lequel** de ces deux peptides **présente la plus forte probabilité** d'adopter une conformation en **hélice α** ? **Justifiez** votre réponse.
- b. Dans le peptide (2), l'acide aminé numéro 6 est muté en **proline** :
Quelles sont les **conséquences** pour la **structure** du peptide? **Justifiez** votre réponse.
- c. Quelles sont les conséquences du traitement à l'**urée** de ces deux peptides ?
- d. Le peptide (2) possède des propriétés **amphiphiles**. **Pourquoi** ?
- e. Ces peptides sont ils **phosphorylables** ? **Justifiez** votre réponse.

5- Etablissez, en **justifiant** votre réponse, la **séquence du polypeptide X** à partir des données expérimentales suivantes :

A- 4 produits de séquence suivante : **T1 : TEAVTVADGWNLEN, T2 : MLLAQINR, T3 : DSQGMTEFPR, T4 : GGMYAQHVTLCCK**, sont obtenus après hydrolyse du polypeptide par la **trypsine** (clivage après **K et R**), **séparation** des produits de digestion et détermination de la séquence de ces produits par la **dégradation d'Edman**.

B- 4 produits de séquence suivante :

C1 : AQHVTLCCKTEAVTVADGW, C2 : MLLAQINRDSQGMTEF, C3 : NLEN, C4 : PRGGMY sont obtenus après hydrolyse du polypeptide par la **chymotrypsine** (clivage après **F, W et Y**), **séparation** des produits de digestion et détermination de la séquence de ces produits par la **dégradation d'Edman**.

Licences Mention Sciences du Vivant - L2S3

Évaluation en TD/TP BIOCHIMIE 2 (J. Pütz et collègues)

12 novembre 2014 - Durée 1h30min

Nom/Prénom :

Groupe de TP et Responsable (par ex B4-4) :

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves, y compris lors de la préparation des épreuves orales. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice.

L'usage d'une calculatrice est limité à des appareils non programmables ne comportant ni écran graphique et ni de caractères alphanumériques. Le prêt d'une calculatrice à un autre candidat est strictement interdit.

Exercice 1 : Calcul simple (1,5 pts)

On dispose d'une solution mère d'ADN de concentration $C = 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

- Quelle quantité d'ADN y a-t-il dans $1,2 \mu\text{L}$ de solution mère ?
- Combien de fois faut-il diluer la solution mère pour obtenir une solution diluée de concentration $C' = 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$?
- Quel volume de solution diluée (de concentration C') faut-il prélever pour avoir 200 ng d'ADN ?

Exercice 2 : Préparation d'un gel SDS_polyacrylamide (4 pts)

- Donner la définition d'une solution 8%(p/v).
Donner la définition d'une solution 8%(v/v).
- Préparez 1 L de tampon d'électrophorèse Tris-Glycine-SDS : quel(le) volume ou masse de chaque produit faudra-t-il prélever ?

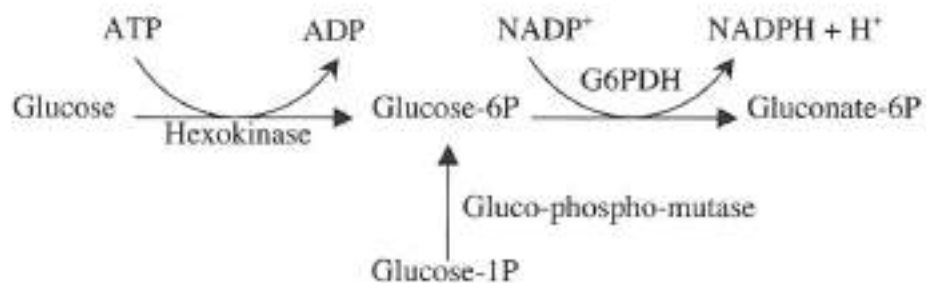
SOLUTIONS et POUDRES STOCK	CONCENTRATION FINALE
Tris base MM=121.14 g/mol	25 mM
Glycine MM=75 g/mol	192 mM
SDS 10 % (p/v)	0.1 % (p/v)
H2O	QSP 1 L

- c. Préparer 10mL de gel de séparation : quel(le) volume ou masse de chaque produit faudra-t-il prélever ?

SOLUTIONS STOCK	CONCENTRATION FINALE
Tris HCl 1 M pH 8.8	375 mM
Solution acrylamide 30 % (p/v)	8% (p/v)
SDS 10 % (p/v)	0.1 % (p/v)
H2O	QSP 10 mL

Exercice 3 : DO et concentration (4 pts)

Réactions enzymatiques :



A 2 mL d'une solution de glucose, on ajoute 0,5mL d'une solution contenant de l'hexokinase, de la glucose-6-phosphate-deshydrogénase (G6PDH) et un excès d'ATP et de NADP⁺. L'absorbance finale, mesurée à 340nm avec une cuve de 1cm de trajet optique est de 0,3.

Calculez la concentration en glucose de la solution originale

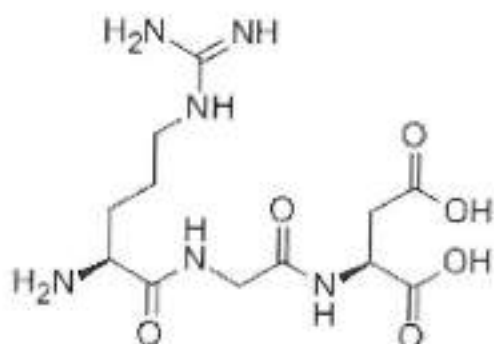
A 340nm, $\epsilon_{\text{NADPH}} = 6220 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

Exercice 4 : TP (3 pts)

Vous disposez de deux tubes sans noms. L'un contient une préparation d'ADN très pure (sans contaminations), l'autre contient un mélange de protéines. Vous décidez de réaliser un test spécifique à chaque macromolécule pour déterminer dans quel tube se trouve chacune d'elle. Quels tests réalisez-vous ? Décrivez en quelques lignes le principe ou fonctionnement biochimique de chaque test.

Exercice 5 : Acides aminés et tableau de charges (7,5 pts)

Le tripeptide représenté ci-dessous est souvent retrouvé dans des protéines de virus ou de venin de serpent et permet à celles-ci de s'attacher à la cellule de l'hôte *via* les intégrines.



- Ecrivez la séquence du tripeptide avec le code **une lettre** des acides aminés qui le composent
- Etablissez un tableau de sa charge en fonction du pH.

- c. A l'aide du pI de ce peptide, proposez une zone de pH permettant de retenir ce peptide sur une résine CM-Sépharose (R-COO-H₃O⁺) ? Justifier votre réponse.

	pKa des groupements ionisables		
	α -COOH	α -NH ₃ ⁺	Chaîne latérale
Alanine	2,35	9,69	
Acide aspartique	2,09	9,82	3,86
Acide glutamique	2,19	9,67	4,25
Asparagine	2	8,8	
Arginine	2,17	9,04	12,48
Cystéine	1,71	10,78	8,33
Glutamine	2,2	9,1	
Glycine	2,34	9,6	
Histidine	1,82	9,17	6
Isoleucine	2,36	9,68	
Leucine	2,36	9,6	
Lysine	2,18	8,95	10,53
Méthionine	2,28	9,21	
Phénylalanine	1,83	9,13	
Proline	1,99	10,6	
Sérine	2,21	9,15	
Thréonine	2,63	10,43	
Tryptophane	2,38	9,39	
Tyrosine	2,2	9,11	10,07
Valine	2,32	9,62	

Exercice 6 : TP (3 points)

Vous possédez une solution de proline et d'acide glutamique. Décrivez la méthode de séparation de ces deux acides aminés, et expliquez comment les mettre en évidence dans les fractions récupérées ?

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents ne sont pas autorisés.

Numéro d'anonymat :

1-Dessinez la séquence du peptide Val-Ser-Lys-Arg-Ala, avec la formule développée en mettant en évidence le squelette de la chaîne polypeptidique ainsi que les chaînes latérales des résidus. Donnez la séquence de ce polypeptide avec le code à une lettre des acides aminés.

2-Une solution renfermant les protéines suivantes, albumine (pI : 4,6), uréase (pI : 5) et myoglobine (pI : 7,5) est déposée sur une colonne de DEAE cellulose (échangeuse d'anions) à pH 6,5. La colonne est ensuite lavée avec un tampon à pH 6,5 puis avec un tampon pH 6,5 renfermant des quantités croissantes de NaCl. Dans quel ordre les protéines sortiront de la colonne ? Justifier votre réponse ?

3- Une enzyme de poids moléculaire 24000 et de pI 5,5 est contaminée par deux protéines ; l'une d'un poids moléculaire semblable mais avec un pI de 7,5 et l'autre avec un poids moléculaire de 100000 et un pI de 5,4. Proposer une stratégie de purification de l'enzyme. Justifier votre réponse ?

4- Indiquer sous la forme d'un schéma les caractéristiques d'un repliement d'une chaîne polypeptidique en feuillet bêta antiparallèle

Numéro d'anonymat :

5- a) Etablissez, en justifiant votre réponse, la séquence du polypeptide Z à partir des données expérimentales suivantes :

A- 3 produits de séquence suivante : T1 :GAFHTPK, T2 :ALLA et T3 : AVNQHLGSHLVEALYLVCGER, sont obtenus après hydrolyse du polypeptide par la trypsine (clivage après K et R), séparation des produits de digestion et détermination de la séquence de ces produits par la dégradation d'Edman.

B- 3 produits de séquence suivante : C1 : AVNQHLGSHLVEALY, C2 : HTPKALLA et C3 : LVCGERGAF, sont obtenus après hydrolyse du polypeptide par la chymotrypsine (clivage après F, W et Y), séparation des produits de digestion et détermination de la séquence de ces produits par la dégradation d'Edman.

b) Une étape supplémentaire cruciale non décrite ci dessus a été réalisée par l'expérimentateur avant les digestions enzymatiques. Laquelle?

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents ne sont pas autorisés.

Numéro d'anonymat :

1- Quelles sont les propriétés d'un catalyseur ? Précisez son effet sur les divers paramètres cinétiques et thermodynamiques d'une réaction chimique. Quelles sont les particularités du catalyseur enzymatique (4 points).

2-Ecrire l'équation de la vitesse d'une réaction enzymatique (l'établissement de l'équation n'est pas demandé). Comment est appelée cette équation ? Préciser quels sont les paramètres cinétiques de l'enzyme. A partir de quel type d'étude et de quelle représentation graphique peut-on déterminer ces paramètres ? (4 points)

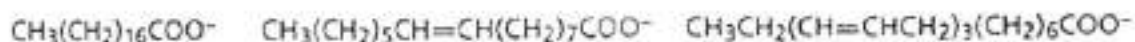
3- Dessinez une paire de bases G-C avec les atomes des bases et les liaisons H impliquées dans la formation de cette paire de bases. Vous indiquerez aussi les atomes localisés dans le grand sillon et potentiellement donneurs ou accepteurs dans des liaisons H (4 points).

4- a) Attribuez un nom aux 3 molécules x, y et z présentées ci dessous en utilisant la nomenclature officielle (IUPAC) et en considérant que les doubles liaisons ont la configuration cis.

x

y

z



b) Classer ces molécules en fonction de leur point de fusion. Donner une explication rendant compte des différences entre les points de fusion. Justifier votre réponse (4 points).

Numéro d'anonymat :

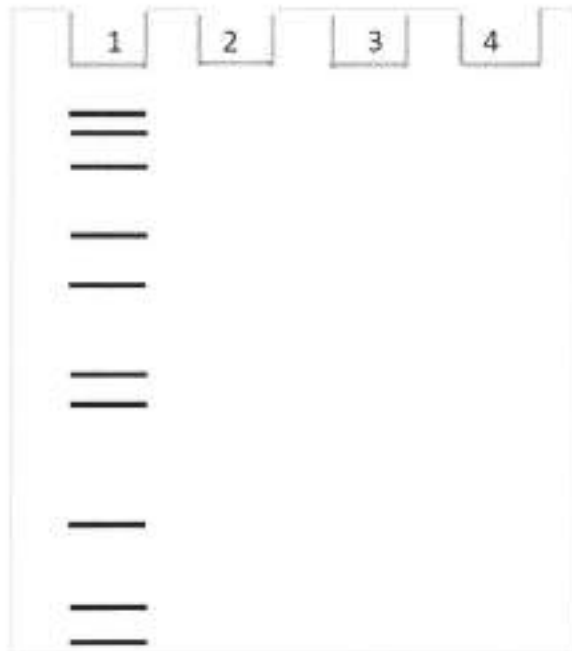
5- Le fragment d'ADN ci dessous est séquencé par la méthode de Sanger. L'astérisque indique la présence d'un composé fluorescent fixé en 5' de l'amorce. L'amorce est hybridée à la partie 3' du brin d'ADN et l'hybride est représenté par deux traits pointillés.



La réaction de séquençage est réalisée dans une solution tampon appropriée en présence d'ADN polymérase et de l'un des mélanges de nucléotides 1 à 4.

- 1. dATP, dTTP, dCTP, dGTP, ddTTP
- 2. dATP, dTTP, dCTP, dGTP, ddGTP
- 3. dATP, dCTP, dGTP, ddTTP
- 4. dATP, dTTP, dCTP, dGTP

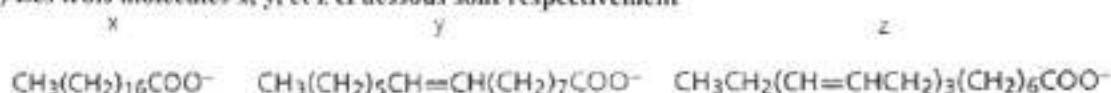
Les didésoxynucléotides sont ajoutées en faible quantité. Les produits de la réaction sont séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide dénaturant puis les composés fluorescents sont localisés sur le gel. Le profil obtenu avec le mélange 1 est représenté dans le schéma ci dessous. Représenter sur le même schéma les profils obtenus avec les mélanges 2 à 4. Justifier vos réponses (4 points).



L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Les Documents sont interdits.

Reportez vos réponses uniquement après avoir bien analysé les différentes propositions. Mettre une croix dans la case correspondant à votre réponse. Une seule réponse par question. Réponse juste : 1 point. Réponse fausse : -0,5 point. Pas de réponse : 0 point.

1) Les trois molécules x, y, et z ci dessous sont respectivement



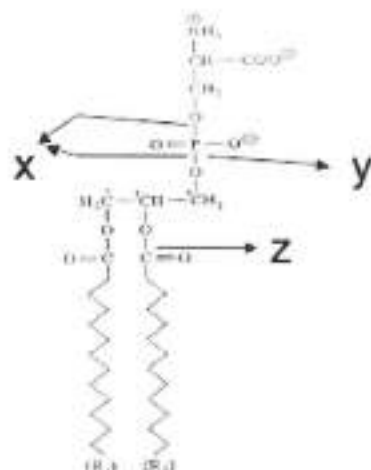
- | | | |
|--------------------|-------------------|------------------------------|
| a) octadécanoate ; | 9-octadécénoate ; | 3, 6, 9-octadécatriénoate |
| b) octadécanoate ; | 9-hexadécénoate, | 9, 12, 15-octadécadiénoate |
| c) hexadécanoate ; | 7-hexadécénoate ; | 3, 6, 9-octadécatriénoate |
| d) octadécanoate ; | 9-hexadécénoate ; | 9, 12, 15- octadécatriénoate |

2) Le point de fusion des 4 molécules suivantes : l'oléate 18: 1 (9), le stéarate 18: 0, l'arachidonate 20: 4 (5,8,11,14) et le linoléate 18: 2 (9,12) sont respectivement de :

- | | |
|--|--|
| a) -9°C , -49°C , 70°C et 13°C | b) -9°C , 70°C , -49°C , et 13°C |
| c) 13°C , 70°C , -49°C et -9°C | d) -49°C , -9°C , 70°C et 13°C |

3) Le composé ci dessous qui est un(e) (1) renferme 3 liaisons x, y et z qui sont respectivement des liaisons

- a) (1) une phosphatidylsérine, x : ester carboxylique, y : ester phosphorique, z : phosphodiester
 b) (1) une phosphatidyléthanolamine, x : phosphodiester, y : ester phosphorique, z : ester carboxylique
 c) (1) une phosphatidylcholine, x : ester phosphorique, y : phosphodiester, z : ester carboxylique
 d) (1) une phosphatidylsérine, x : phosphodiester, y : ester phosphorique, z : ester carboxylique



4) Les sphingomyélines présentent des analogies structurales avec :

- a) les phosphatidylcholines b) les phosphatidylsérines
 c) les phosphatidyléthanolamines
 d) les triacylglycérols

5) Le céramide est le produit et le précurseur des :

- a) produit de la fixation d'un acide gras sur le groupe OH en C1 de la sphingosine, précurseur des sphingomyélines
 b) produit de la fixation d'un acide gras sur le groupe OH en C3 de la sphingosine, précurseur des sphingomyélines

- e) produit de la fixation d'un acide gras sur le groupe amine de la sphingosine, précurseur des spingogalactomyélines
 d) produit de la fixation d'un acide gras sur le groupe amine de la sphingosine, précurseur des sphingomyélines
 e) produit de la fixation d'un acide gras sur le groupe OH en C1 de la sphingosine, précurseur des galactocérébrosides

6) Les lipides qui sont trouvés naturellement dans les membranes biologiques ne peuvent pas former de micelles en solution car les lipides membranaires :

- a) sont amphipathiques b) renferment deux chaînes hydrocarbonées c) renferment une seule chaîne hydrocarbonée

7) Les données ci dessous indiquent les proportions en acides gras présents dans les lipides de préparations de membranes (w, x, y et z) isolées d'une même souche bactérienne cultivée à 4 températures différentes : 22°C (temp. a), 25°C (temp. b), 32°C (temp. c) et 37°C (temp. d)

	C14 :0 %	C16 :0 %	C16 :1 %	% insaturé
Préparation x	15	60	24	25
Préparation z	4	47	47	49
Préparation y	9	59	30	32
Préparation w	19	65	16	16

A quelle température a été placée la culture qui a permis d'obtenir la préparation y ?

8) Les différences observées entre les points de fusion de différentes préparations homogènes d'acides gras sont le reflet des liaisons (1) qui s'établissent entre les molécules.

- a) hydrogènes, b) ioniques, c) Van der Waals.

9) Les doubles liaisons présentes dans les acides gras qui rentrent dans la composition des lipides membranaires ont très fréquemment la configuration (1) et sont (2). Le nombre d'atomes de C de ces molécules est généralement compris entre (3).

- a) 1-cis 2- non conjuguées 3- 14 et 24 C
 b) 1-trans 2- non conjugués 3- 18 et 30 C
 c) 1-cis 2- conjuguées 3- 14 et 24 C

10) La présence du cholestérol dans une bicouche lipidique entraîne :

- a) une augmentation de la rigidité du début de la chaîne hydrocarbonée des acides gras adjacents
 b) une diminution de la rigidité du début de la chaîne hydrocarbonée des acides gras adjacents

Numéro d'anonymat :

Mettre une croix dans la case correspondant à votre réponse. Une seule réponse par question. Réponse juste : 1 point. Réponse fautive : -0,5 point. Pas de réponse : 0 point.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a										
b										
c										
d										

Cadre réservé au correcteur

Nombre de réponses	Réponses justes	Réponses fausses	Note sur 10

Numéro d'anonymat :

1. Décrire la séquence primaire du segment suivant de la kératine humaine :
-Lys-Gly-Arg-Tyr-Cys-, en mettant en évidence le squelette de la chaîne peptidique ainsi que les chaînes latérales des 5 résidus acides aminés.

2. Quelles sont les différentes forces qui stabilisent la structure tridimensionnelle d'une protéine ?

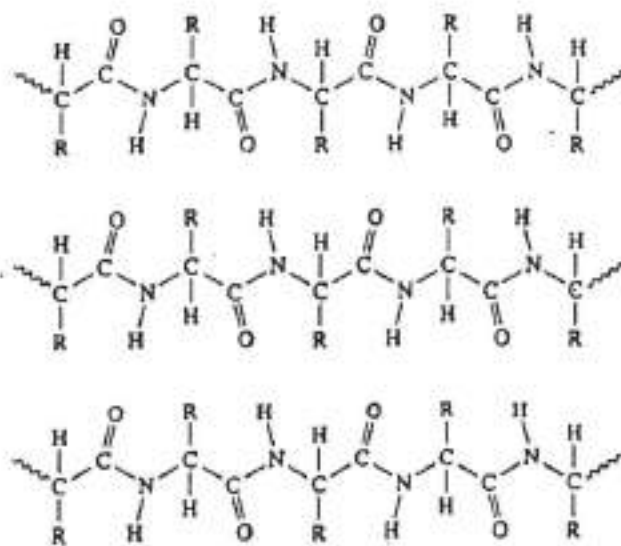
3. Donner un exemple de modification chimique que peut subir la chaîne latérale de la lysine (réactif et produit de réaction).

4. Qu'est-ce qui définit le site catalytique d'une enzyme ?

5a. Indiquez le sens des brins de chaînes polypeptidiques

5b. S'agit-il d'un feuillet parallèle ou anti-parallèle ?

5c. Mettre en place 6 liaisons hydrogène impliquées dans la stabilisation de ce feuillet β



- c. Quelle est la vitesse initiale de l'enzyme E lorsque $[S] = 2\mu\text{M}$? Quel est le nom de l'équation que vous utilisez ici ?

4. Notions techniques (2 points)

- a. On a purifié une protéine X. $8\mu\text{l}$ de notre solution mère (pure) $[30\text{ mg/mL}]$ ont été ajoutés à $152\mu\text{l}$ d'eau. Quelle est sa concentration finale et combien de fois a-t-on dilué la solution mère ?

5. Acides Nucléiques (6 points)

1. Clonage

- a. Décrivez ET dessinez les deux types d'extrémités résultant de l'action d'une enzyme de restriction.

2. Le code génétique (4,5 points)

		Seconde base				
		U	C	A	G	
P r e m i è r e b a s e	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr	Cys Cys Trp	U C A G
	C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
	A	Ile Ile Ile	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G
						T r o i s i è m e b a s e

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Les Documents sont interdits.

Reportez vos réponses uniquement après avoir bien analysé les différentes propositions. Mettre une croix dans la case correspondant à votre réponse. Une seule réponse par question. Réponse juste : 1 point. Réponse fautive : -0,5 point. Pas de réponse : 0 point.

1) L'addition d'un groupement méthyle sur l'atome d'oxygène en position 6 de la guanine produit une base (m6G) capable de s'apparier avec la (1). Lors de la réplication une paire de bases contenant de la m6G donne naissance après deux réplications à deux molécules filles non mutées et à deux autres molécules filles dont l'une porte une paire (2) et l'autre une paire (3)

a) 1-thymine 2- m6G-T 3-G-C b) 1-cytosine 2- m6G-T 3-A-T
c) 1-thymine 2- G-T 3-A-T d) 1-thymine 2-m6G-T 3-A-T e) 1-cytosine 2-m6G-C 3-A-T

2) Vous désirez amplifier, par une réaction de polymérisation en chaîne (PCR), un fragment d'ADN localisé dans de l'ADN génomique. Le fragment d'ADN recherché sera présent dans le milieu réactionnel à la fin du cycle (1) de la réaction et il sera présent en (2) :

a) 1- 2^{ème} cycle, 2- 2 exemplaires b) 1-5^{ème} cycle, 2- 3 exemplaires c) 1-3^{ème} cycle, 2-1exemplaire
d) 1- 3^{ème} cycle, 2- 2 exemplaires e) 1-4^{ème} cycle, 2- 2 exemplaires

3) Les sillons majeurs et mineurs de l'ADN sont bordés par différents atomes donneurs et accepteurs potentiels dans des liaisons hydrogène. Dans une paire de bases G-C, le sillon majeur est bordé par les accepteurs et donneurs potentiels suivants : a) N-7 du G et O-6 du G. b) N-3 du G, H du NH₂ en C-2 du G et O en C-2 du C. c) N-7 du G, O-6 du G et H du NH₂ en C-4 du C d) N-7 du G, O-6 du G, H du NH₂ en C-4 du C et H en N-1 du G.

4) Le fragment d'ADN suivant (un seul des 2 brins est représenté): CCACGCTCACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGC est utilisé dans une réaction d'amplification par PCR. Ce fragment sera amplifié dans son intégralité en utilisant le couple d'amorces :

a) CCACGCTCACCGGCTGG et GCGCTCGGCCCTTCCGG b) CCACGCTCACCGGCTCC et GCGCTCGGCCCTTCCGG
c) GGAGCCGGTGAGCGTGG et CCGGAAGGGCCGAGCGC d) CCACGCTCACCGGCTGG et CCGGAAGGGCCGAGCGC

5) Le traitement d'une préparation d'acides nucléiques par la soude entraîne le clivage des liaisons (1) de (2) et produit (3) :

a) 1-phosphodiester 3'-5' 2- de l'ARN 3-un mélange équimoléculaire de nucléosides 2' et 3' phosphate.
b) 1-phosphodiester 3'-5' 2- de l'ARN 3-un mélange de nucléosides 2'(25%) et 3' phosphate (75%).
c) 1-phosphodiester 3'-5' 2-de l'ADN 3- un mélange équimoléculaire de nucléosides 2' et 3' phosphate.
d) 1-N-glycosidiques 2- de l'ARN 3-un mélange de nucléosides 3' et 5' phosphate.

6) Une synthèse d'ADN est observable si à une solution contenant de l'ADN polymérase I et des dNTP est ajouté :

a) un ADN simple brin de 1000 nucléotides apparié avec un ADN simple brin linéaire de 100 nucléotides renfermant une extrémité 5'phosphate et une extrémité 3'phosphate. b) un ADN double brin de 1000 paires de bases dont le clivage de 3 liaisons phosphodiester sur l'un des brins a généré des extrémités 3'OH c) un ADN simple brin circulaire de 1000 nucléotides d) un ADN simple brin circulaire de 1000 nucléotides apparié avec un ADN simple brin de 100 nucléotides renfermant une extrémité 5'-OH et une extrémité 3'-phosphate.

7) L'opéron tryptophane est un opéron qualifié de,(d')(1). Le tryptophane joue le rôle de (2) en se combinant au (3). Le complexe ainsi formé avec le tryptophane se lie au, (à l')(4).

a) 1-catabolique 2-corepresseur 3-represseur 4-opérateur b) 1-catabolique 2-corepresseur 3-represseur 4-promoteur
c) 1-anabolique 2-represseur 3-corepresseur 4-opérateur d) 1-anabolique 2-corepresseur 3-represseur 4-régulateur

8) Les différentes réactions qui interviennent lors de la réparation d'ADN par excision de bases font intervenir successivement : a) une endonucléase, une deuxième endonucléase, l'ADN polymérase I puis l'ADN ligase b) une endonucléase, une ADN glycosylase, l'ADN polymérase I puis l'ADN ligase. c) une ADN glycosylase, l'ADN

polymérase I, une endonucléase, puis l'ADN ligase. **d)** une ADN glycosylase, une endonucléase, l'ADN polymérase I puis l'ADN ligase

9) Les histones sont des protéines (1), qui subissent des modifications (2). Une de ces modifications (3) sur la chaîne latérale de la (4) entraîne une (5) de la chromatine.

- a)** 1-acides, 2- post-traductionnelles, 3- la méthylation, 4- lysine, 5-ouverture.
b) 1-basiques, 2- post-traductionnelles, 3-l'acétylation, 4- lysine, 5-fermeture
c) 1-basiques, 2- post-traductionnelles, 3-l'acétylation, 4- arginine, 5-ouverture.
d) 1-basiques, 2- post-traductionnelles, 3-l'acétylation, 4- lysine, 5-ouverture.
e) 1-acides, 2- post-transcriptionnelles, 3-l'acétylation, 4- lysine, 5-fermeture.

10) Chez les eucaryotes, l'ARN polymérase III transcrit les gènes qui codent pour :

- a)** les ARNm, les ARNt et des scRNA **b)** les ARNr **c)** les ARNm, l'ARNr 5S et des snRNA **d)** les ARNt, ARNr 5S, des snRNA et des scRNA. **e)** les ARNt, l'ARN 5,8S, des snRNA et des scRNA.

11) Les ARNm eucaryotiques sont polyadénylés au niveau de leur extrémité 3'. Lors de la réaction de polyadénylation, le pre-ARNm est clivé (1) du signal de polyadénylation. La présence de cette queue de polyA permet la purification des ARNm par chromatographie (2) sur une résine sur laquelle est greffée des oligonucléotides renfermant des (3)

- a)** 1-en aval 2-d'affinité 3-thymines **b)** 1-en amont 2-d'affinité 3-thymines
c) 1-en aval 2-d'échanges d'ions 3-thymines **d)** 1-en amont 2-d'affinité 3-cytosines

12) La réaction d'épissage du précurseur de l'ARN ribosomique de *Tétrahyména* nécessite les deux réactions (1 et 2) suivantes :

- a)** 1- attaque du site d'épissage 5' par le 2'OH du ribose de la guanosine. 2- attaque du site d'épissage 3' par le 3'OH de l'exon 5'.
b) 1- attaque du site d'épissage 5' par le 3'OH du ribose de la guanosine. 2- attaque du site d'épissage 3' par le 3'OH de l'exon 5'.
c) 1- attaque du site d'épissage 3' par le 3'OH du ribose de la guanosine. 2- attaque du site d'épissage 5' par le 5'OH de l'exon 3'.
d) 1- attaque du site d'épissage 5' par le 3'OH du ribose de l'adénosine. 2- attaque du site d'épissage 3' par le 3'OH de l'exon 5'.

13) Lors de la transcription, l'ARN polymérase catalyse :

- a)** l'attaque nucléophile du phosphore en β du nucléotide entrant par le 3' OH de la chaîne ribonucléotidique naissante. **b)** l'attaque nucléophile du phosphore en α du nucléotide entrant par le 3' OH de la chaîne ribonucléotidique naissante **c)** l'attaque nucléophile du phosphore en α du nucléotide entrant par le 5' OH de la chaîne ribonucléotidique naissante. **d)** l'attaque électrophile du phosphore en α du nucléotide entrant par le 3' OH de la chaîne ribonucléotidique naissante

14) L'ARN polymérase eubactérienne renferme plusieurs chaînes associées en une structure (1). Le noyau catalytique de l'enzyme est constitué des sous-unités (2). La reconnaissance du promoteur est assurée par la sous-unité (3). Dans certaines conditions physiologiques des facteurs (4) différents sont synthétisés.

- a)** 1- $\alpha\beta 2\beta'\omega\sigma$ 2- $\alpha\beta 2\beta'$ 3- σ 4- α
b) 1- $\alpha\beta\beta'2\sigma$ 2- $\alpha 2\beta\beta'$ 3- α 4- α
c) 1- $\alpha 2\beta\beta'\omega\sigma$ 2- $\alpha 2\beta\beta'\omega$ 3- σ 4- σ
d) 1- $\alpha 2\beta\beta'\omega\sigma$ 2- $\alpha 2\beta\beta'\omega$ 3- α 4- σ

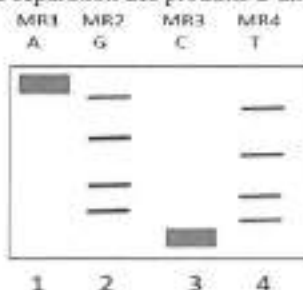
15) Trois échantillons d'ADN x, y et z renfermant respectivement 25%, 15%, et 55% de guanine et de cytosine sont traités afin de déterminer leur température de fusion.

Les températures de fusion respectives suivantes sont mesurées pour x, y et z :

- a)** 75°, 55° et 50° **b)** 55°, 50° et 75° **c)** 75°, 50° et 55° **d)** 50°, 55° et 75°

16) La longueur du chromosome de *E. coli* est de 1,28 mm. Dans les conditions optimales, l'ADN de ce chromosome est répliqué en 40 minutes. Quelle est la distance parcourue par une fourche de réplication en une minute ? **a)** 0,008 mm **b)** 0,016 mm **c)** 0,032mm **d)** 0,064 mm

17) La séparation des produits d'une réaction de séquençage d'ADN donne après autoradiographie le profil suivant.



Que pouvez vous conclure de la composition des milieux réactionnels (MR) de la réaction de séquençage pour les pistes 1 et 3

- a)** absence de ddATP dans le MR1 et absence de ddCTP dans le MR3
b) large excès de ddATP dans le MR1 et absence de ddCTP dans le MR3
c) absence de ddATP dans le MR1 et large excès de ddCTP dans le MR3
d) absence de ddCTP dans le MR1 et absence de ddATP dans le MR3

18) Les trois enzymes de restriction BamHI, EcoRI et PstI clivent l'ADN comme indiqué par les flèches dans le schéma ci dessous.



Les extrémités générées sont qualifiées de (1) et sont respectivement (2). **a)** (1) cohésives (2) 5'sortantes, 5'sortantes et 3' sortantes. **b)** (1) franches (2) 5' sortantes, 5' sortantes et 3' sortantes. **c)** (1) cohésives (2) 3' sortantes, 3' sortantes et 5'sortantes. **d)** (1) palindromiques (2) 5'sortantes, 5'sortantes et 3'sortantes

19) La coiffe des ARNm chez les eucaryotes renferme une guanine modifiée par l'addition d'un groupement (1) en position (2) de la base. Cette guanine modifiée est associée au nucléoside adjacent par un ribose et par une liaison renfermant (3) phosphates. Le ribose qui porte la guanine modifiée est lié, par son carbone (4), au nucléotide adjacent.

- | | | | | | | | |
|--------------------|-----|---------|------|--------------------|-----|---------|------|
| a) 1-méthyl | 2-7 | 3-trois | 4-5' | b) 1-éthyl | 2-7 | 3-trois | 4-5' |
| c) 1-méthyl | 2-1 | 3-deux | 4-5' | d) 1-méthyl | 2-7 | 3-trois | 4-3' |

20) Les réactions de désamination oxydative de la cytosine, de la guanine et de l'adénine donnent naissance respectivement à :

- | | |
|--|--|
| a) la 5-méthylcytosine, la xanthine et l'hypoxanthine | b) la xanthine, l'uracile et l'hypoxanthine |
| c) l'uracile, l'hypoxanthine et la xanthine | d) l'uracile, la xanthine, l'hypoxanthine |

Numéro d'anonymat :

Mettre une croix dans la case correspondant à votre réponse. Une seule réponse par question. Réponse juste : 1 point. Réponse fausse : -0,5 point. Pas de réponse : 0 point.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a										
b										
c										
d										
e										

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
a										
b										
c										
d										

Cadre réservé au correcteur

Nombre de réponses	Réponses justes	Réponses fausses	Note sur 20

c. 1. Quelle est la normalité de l'acide phosphorique ?

c. 2. Décrire la préparation de 500 mL de réactif de Bradford.

Exercice 2 : Acides aminés et pH

a. Dessiner la structure de la **cystéine**.

b. Donner les abréviations à 3 lettres **et** à une lettre de cet acide aminé.

c. Donner la forme majoritaire de la **lysine** à pH 4,5. Représenter l'évolution de la charge globale en fonction du pH. Les pKa des différents groupements ionisables sont :
pKa α -COOH = 2,18 pKa α -NH₃⁺ = 8,95 pKa ϵ -NH₃⁺ = 10,53

d. Calculer son pI (ou pHi).

L'équation d'Henderson-Hasselbach permet le calcul du pH comme une mesure de l'acidité (en utilisant le pKa) dans les systèmes biologiques et chimiques.

Calculer le pH pour lequel le groupe ϵ -NH₃⁺ de la **lysine** est dissocié aux $\frac{3}{4}$.

Exercice 3 : Enzymologie

Quelle est la fonction biologique de la RNA polymérase II ?

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Vos sacs doivent être déposés au bas de l'amphi. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

Vous devez remplir la fiche réponse ci-jointe. N'oubliez pas d'indiquer vos numéros d'anonymat et votre groupe de TD.

*Leishmania est un parasite infectant diverses espèces de mammifères dont l'homme. Ce parasite est responsable d'affections cutanées mais également viscérales potentiellement mortelles. Les auteurs des figures qui vont suivre ont voulu déterminer l'importance d'une cytokine, l'IL-12 dans la mise en place de la réponse contre *Leishmania major* chez la souris. Pour ce faire ils ont utilisé des souris BALB/c (B/c), des souris C57BL/6 (B6), et des souris C57BL/6 génétiquement déficientes pour une sous-unité de l'IL-12 (p40) : B6 p40^{-/-}.*

La figure 1 représente la taille des lésions cutanées provoquées par l'infection parasitaire en fonction du temps après la première injection de parasite, pour les différentes souches de souris.

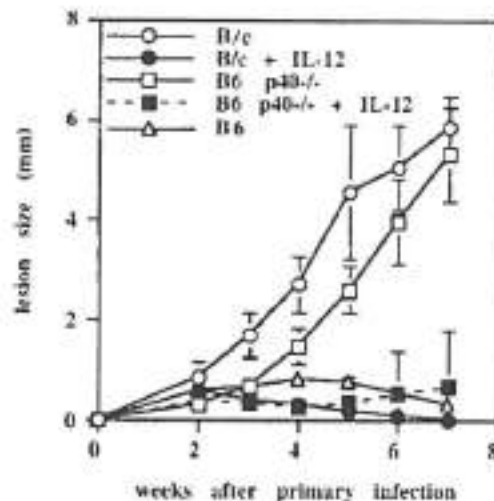


Figure 1 : Les différentes souches de souris indiquées sur la figure ont été infectées par 2 millions de parasites sur la patte arrière gauche. Les parasites peuvent alors former dans certains cas des lésions cutanées caractéristiques de la maladie dont la taille est figurée ici. Certaines souris ont reçu en outre, lorsqu'indiqué, une injection d'IL-12 (+IL-12) au niveau de la lésion, six fois pendant les deux premières semaines de l'infection

Analysez la figure 1 et répondre aux questions suivantes. Toutes les réponses concernant les résultats de l'expérience devront être justifiées à l'aide des figures.

Question 1:

Qu'est-ce que l'IL-12? Quelles cellules la produisent? Quelle est sa fonction dans la polarisation de la réponse immunitaire?

Question 2

Les souris BALB/c et C57BL/6 ont-elles la même sensibilité à l'infection par *Leishmania major* ?

Question 3

Quel est l'effet de l'IL-12 sur l'infection par *Leishmania major* des souris BALB/c ?
Quelle hypothèse pouvez vous faire à partir de ces résultats ?

Question 4

Quelle est la sensibilité des souris B6 p40 -/- à l'infection par *Leishmania major* ? L'addition d'IL-12 modifie-t-elle les résultats? Ces résultats confirment-ils votre hypothèse de la question 3 ?

Question 5:

Résumez en une phrase les conclusions de cette expérience.

La figure 2 représente les concentrations d'IFN- γ et d'IL-4 sécrétées par des cellules ganglionnaires, de deux souches de souris, stimulées par des antigènes solubles issus de *Leishmania major*.

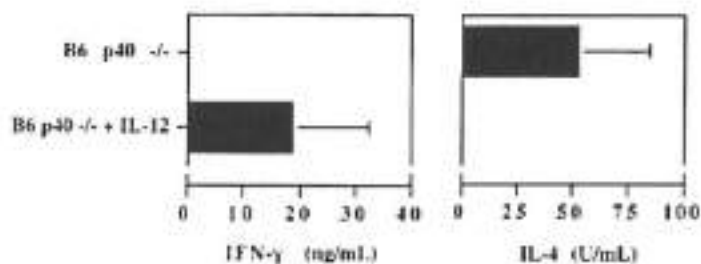


Figure 2 : Deux semaines après la première infection, les cellules des ganglions lymphatiques ont été collectées et stimulées par des antigènes solubles de *Leishmania major*. Trois jours plus tard les surnageants de culture ont été prélevés et dosés par méthode ELISA pour déterminer les quantités d'IFN- γ et d'IL-4 sécrétées.

Analysez la figure 2 et répondre aux questions suivantes. Toutes les réponses concernant les résultats de l'expérience devront être justifiées à l'aide des figures.

Question 6:

Pourquoi avoir dosé l'IFN- γ et l'IL-4? Quelles cellules produisent ces cytokines? Quel marqueur membranaire les caractérise ?

Question 7:

Que montre la figure 2 et que pouvez-vous en déduire?

Question 8:

Quelle(s) expérience(s) complémentaire(s) pourriez-vous faire pour confirmer votre hypothèse?

En utilisant la cytométrie en flux, les auteurs ont pu établir le pourcentage de cellules ne produisant pas ou produisant l'une et/ou l'autre des cytokines, dans deux souches de souris (B6 p40 -/-, C57BL/6) infectées par *Leishmania major* (Tableau 1).

Tableau 1 : Pourcentages de populations cellulaires productrices d'IFN- γ et/ou d'IL-4 en réponse à des antigènes solubles issus de Leishmania major définis par cytométrie en flux.

Profil d'expression cytokinique de la population cellulaire d'intérêt	Souches de souris	
	B6 p40 -/-	C57BL/6
IFN- γ + / IL-4 -	0,5 %	(a)
IFN- γ - / IL-4 +	3,5 %	(b)
IFN- γ + / IL-4 +	0 %	(c)
IFN- γ - / IL-4 -	96%	96%

Observez le tableau 1 et répondez aux questions. Toutes les réponses concernant les résultats de l'expérience devront être justifiées à l'aide des figures.

Question 9

En utilisant les résultats des figures 1 et 2, essayez d'évaluer les valeurs de (a), (b) et (c).

- (a) est-il supérieur, inférieur ou égal à 0,5 %?
- (b) est-il supérieur, inférieur ou égal à 3,5 %?
- (c) est-il supérieur ou égal à 0 %?

Question 10

Quel nom donneriez-vous à la population majoritaire IFN- γ /IL-4- ?

Question 11

D'après le type de réponse protectrice mise en place, que pouvez-vous déduire sur le mode d'infection de *Leishmania* ? Quelles cellules effectrices, selon vous, permettent de limiter l'infection ?

En guise de bilan de ces expériences complétez le texte suivant :

Les souris **Réponse A1** contrairement aux souris **Réponse A2** sont sensibles à l'infection par *L. major*. Les expériences présentées précédemment montrent que la cytokine **Réponse A3** joue un rôle fondamental dans la mise en place d'une réponse efficace contre le parasite. Cette réponse est sans doute une réponse à médiation **Réponse A4** puisque ce sont les cellules de type **Réponse A5** sécrétant de l'IFN- γ qui se développent chez les souris résistantes.

La cytokine **Réponse A3** pourrait être sécrétée par le type cellulaire suivant : **Réponse A6**, appartenant à l'immunité innée, indispensable à l'initiation d'une réponse immunitaire adaptative.

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Vos sacs doivent être déposés au bas de l'amphi. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve.

Vous devez remplir la fiche réponse ci-jointe. N'oubliez pas d'indiquer vos numéros d'anonymat et votre groupe de TD.

Les relations entre le système nerveux et le système immunitaire sont nombreuses et complexes. De nombreuses molécules produites par les neurones influencent le comportement des cellules du système immunitaire. Parmi elles, le « peptide intestinal vasoactif » (VIP) et le « polypeptide activant l'adénylate cyclase produit par la pituitaire » (PACAP) sont connus pour être des agents immunomodulateurs puissants bien que leur mécanisme d'action soit peu connu. Les auteurs du travail qui vous est proposé pour étude se sont penchés sur l'impact des peptides VIP et PACAP sur les cellules dendritiques.

Les auteurs de ce travail ont tout d'abord ajouté les neuropeptides VIP ou PACAP sur des cellules dendritiques, *in vitro*. Ils ont ensuite mesuré l'intensité d'expression des molécules de surface CD80 et CD86. Les résultats sont présentés en figure 1.

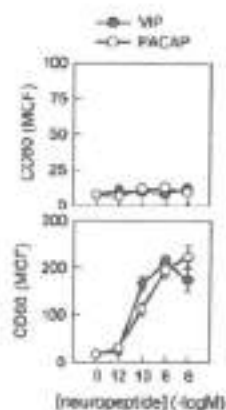


Figure 1 : Des cellules dendritiques ont été traitées *in vitro* par des neuropeptides pendant 24h. Les auteurs ont mesuré l'expression de surface (MCF, unités arbitraires) des molécules CD80 et CD86 par les cellules dendritiques en fonction de la dose de neuropeptides (VIP, ronds noirs ou PACAP, rond blancs).

Question 1 : Les molécules CD80 et CD86 font partie de la famille appelée B7. Quel est l'autre nom (en relation avec leur fonction) de cette famille de molécules ? Que permettent-elles ? (2 lignes)

Question 2 : A partir de l'analyse de la figure 1, décrivez l'effet des neuropeptides VIP et PACAP sur les cellules dendritiques ? (2 lignes)

Question 3 : Quel type de molécules que vous connaissez peut-avoir un effet proche de celui de VIP et PACAP sur les cellules dendritiques? D'où proviennent ces molécules et quelle est leur famille de récepteurs ? (2 lignes)

Question 4 : Proposez un contrôle négatif pour cette expérience. En regard de la réponse à la question 3, proposez un contrôle positif pour cette expérience. Argumentez (3 lignes)

Les auteurs ont ensuite voulu déterminer l'impact du traitement des cellules dendritiques par VIP et PACAP sur la réponse adaptative. Pour ce faire, ils ont mis en culture des lymphocytes T CD4+ avec des cellules dendritiques traitées ou non par les neuropeptides. Les résultats vous sont présentés en figure 2.

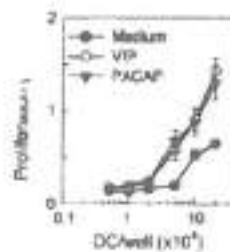


Figure 2 : Des cellules dendritiques prétraitées par du VIP (ronds blancs) du PACAP (triangle noirs) ou non (« medium », ronds noirs) pendant 24 heures ont été mises en présence de cellules T CD4+ pendant 4 jours. La prolifération cellulaire a ensuite été mesurée. Les résultats obtenus sont mesurés en cpm ($\times 10000$) et sont fonction de la quantité de cellules dendritiques déposées par puits (DC/well en abscisse).

Question 5 : Que veut-dire cpm ? (mot ou expression)

Question 6 : Quelle est la technique/méthode expérimentale qui a été utilisée ici pour mesurer la prolifération cellulaire ? Expliquez. (4 lignes)

Question 7 : Analysez cette figure et concluez (4 lignes)

Question 8 : Un récepteur majeur indispensable à l'activation des cellules T CD4+ n'est pas cité et est pourtant impliqué dans le résultat observé. Lequel et que reconnaît-il ? (1 ligne)

Question 9 : En regard de la réponse précédente, il manque une information importante dans cette expérience, expliquant qu'on puisse observer une prolifération. A votre avis laquelle ? Argumentez (3 lignes).

Les auteurs se sont ensuite penchés sur les causes de l'effet observé précédemment. Pour ce faire ils ont effectué la même expérience mais en ajoutant certains réactifs dans le milieu. Ils ont ensuite mesuré la prolifération des cellules T CD4+ de la co-culture. Les résultats vous sont présentés en figure 3.

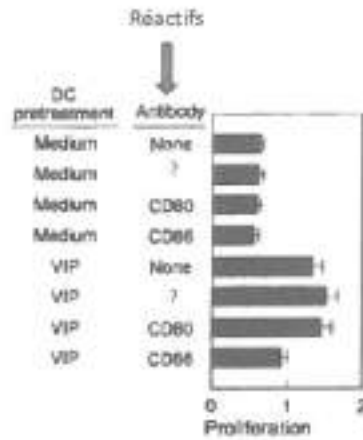


Figure 3 : Des cellules dendritiques prétraitées par du VIP ou non (« medium ») pendant 24 heures ont été mises en présence de cellules T CD4+ pendant 4 jours. La prolifération cellulaire a ensuite été mesurée. Dans certains cas des réactifs ont été ajoutés pendant la coculture (anticorps anti-CD80, anti-CD86, réactif caché (?)) ou non (none). Les résultats obtenus sont mesurés en cpm ($\times 10000$) et sont fonction de la quantité de cellules dendritiques déposées par puits (DC/well en abscisse).

Question 10 : Le réactif caché permet de réaliser un contrôle négatif. Que pourrait-il être ? (Mot ou expression)

Question 11 : A votre avis quel est l'effet recherché par l'ajout des anticorps ? (1 ligne)

Question 12 : Analysez la figure et concluez. (3 lignes)

Les auteurs ont ensuite voulu évaluer les sécrétions cytokiniques. Les résultats sont présentés en figure 4.

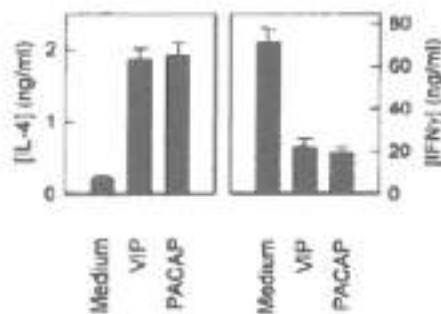


Figure 4 : Des cellules dendritiques prétraitées par du VIP, du PACAP ou sans traitement (« medium ») pendant 24 heures ont été mises en présence de cellules T CD4+ pendant 4 jours. L'expression des cytokines (en ng/ml) IL4 et IFN- γ a été mesurée dans les surnageants des coculture décrites précédemment.

Question 13 : Quelles cellules, respectivement, sécrètent l'IL-4 et l'IFN- γ ? (1 ligne)

Question 14 : Y-a-t-il un lien entre l'expression de ces deux cytokines, argumentez. (1 ligne)

Question 15 : Analysez la figure 4 et concluez (4 lignes)

Question 16 : Combien de signaux sont nécessaires pour qu'une cellule dendritique active une cellule T naïve ? (argumentez, 3 lignes)

Question 17 : En regard de la réponse précédente, proposez l'étude d'un paramètre pertinent de l'activation des cellules dendritiques, consolidant l'étude, n'ayant pas été mesuré dans les figures présentées. (2 lignes)

Question 18 : A votre avis, quelle pourrait être la conséquence sur la réponse immune *in vivo* de l'action de ces neuropeptides sur les cellules dendritiques (tenez compte de tous les résultats)? (4 lignes)

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents ne sont pas autorisés.

Numéro d'anonymat :

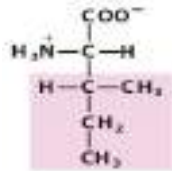
Question 1- (4 points). Citez, en utilisant le code à **trois lettres** et le code à **une lettre**, le ou les **acide(s) aminé(s)** correspondant à chacune des propriétés suivantes :

- a. sa chaîne latérale possède un **atome de soufre**, mais pas de groupement **thiol**.
- b. possède un **groupement α aminé substitué**
- c. sa chaîne latérale est **aromatique et phosphorylable**.
- d. joue un rôle important dans le maintien de la structure des protéines par la capacité de sa **chaîne latérale à établir des liaisons covalentes réversibles par oxydoréduction**.
- e. est capable de **former des liaisons H** par l'intermédiaire de sa **chaîne latérale**.
- f. est capable de **former des liaisons ioniques** par l'intermédiaire de sa **chaîne latérale**.
- g. sa **chaîne latérale** contient une fonction **amide**.

Indiquez vos réponses à la **question 1** dans le tableau **ci dessous**

	Acide aminés code à trois lettres	Acides aminés code à une lettre
a		
b		
c		
d		
e		
f		
g		

Question 2 (4 points). L'isoleucine a la structure suivante.



- Combien de **centres chiraux** sont présents dans cette molécule
- Combien y a-t-il d'**énantiomères** possibles
- Représenter les différents énantiomères en projection de **Fischer**. Justifier vos réponses

Question 3 (4 points). Une protéine a une masse moléculaire estimée à 400 kDa par **chromatographie d'exclusion**. Trois bandes de masse moléculaire de **180, 160 et 60 kDa** apparaissent lorsque la protéine est soumise à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS (**SDS-PAGE**). Lorsque le SDS-PAGE est réalisé en présence d'un agent réducteur comme le dithiothréitol, trois bandes apparaissent toujours mais cette fois de poids moléculaire **160, 90 et 60 kDa**.

Déterminer la composition en sous-unités de la protéine étudiée ainsi que les caractéristiques des sous-unités. Commenter votre réponse.

Numéro d'anonymat :

Question 4 (4 points). Une méthode pour séparer les polypeptides repose sur leur différence de **solubilité**. La solubilité des grands peptides dans l'eau dépend de la **polarité relative** des groupes R et tout particulièrement du nombre de groupes ionisés. Plus le nombre de groupes **ionisés** est **important** plus le peptide est soluble. Dans chaque paire de polypeptides ci dessous quel est celui qui est le **plus soluble au pH indiqué**. Justifier votre réponse.

a- (Gly)₂₀ ou (Glu)₂₀ à pH 7

b- (Lys-Ala)₃ ou (Phe-Met)₃ à pH 7

c- (Ala-Ser-Gly)₅ ou (Asn-Ser-His)₅ à pH 6

d- (Ala-Asp-Gly)₅ ou (Asn-Ser-His)₅ à pH 3

(Les **pKa** des groupes ionisables des chaînes latérales (**R**) sont les suivants : pK_R Tyr : 10,07 ; pK_R Cys : 8,18 ; pK_R Lys : 10,53 ; pK_R His : 6,00 ; pK_R Arg : 12,48 ; pK_R Asp : 3,65 ; pK_R Glu : 4,25).

Question 5-(4 points). Une solution de pH 7, renfermant un **mélange des trois peptides**, dont la composition en acides aminés est donnée ci dessous, est déposée sur une colonne **échangeuse de cations** équilibrée à un pH de 7. Donner **l'ordre d'élution** des peptides de la colonne. Justifier votre réponse.

Peptide A : Ala 10%, Glu 5%, Ser 5%, Leu 10%, Arg 10%, His 5%, Ile 10%, Phe 5%, Tyr 5%, Lys 10%, Gly 10%, Pro 5% et Trp 10%.

Peptide B : Ala 5%, Val 5%, Gly 10%, Asp 5%, Leu 5%, Arg 5%, Ile 5%, Phe 5%, Tyr 5%, Lys 5%, Trp 5%, Ser 5%, Thr 5%, Glu 5%, Asn 5%, Pro 10%, Met 5% et Cyst 5%.

Peptide C : Ala 10%, Glu 10%, Gly 5%, Leu 5%, Asp 10%, Arg 5%, Met 5%, Cyst 5%, Tyr 5%, Phe 5%, His 5%, Val 5%, Pro 5%, Thr 5%, Ser 5%, Asn 5% et Gln5%.

Les **pKa** des groupes ionisables des chaînes latérales (**R**) sont les suivants : pK_R Asp : 3,65 ; pK_R Glu : 4,25 ; pK_R His : 6,00 ; pK_R Cys : 8,18 ; pK_R Tyr : 10,07 ; pK_R Lys : 10,53 ; pK_R Arg : 12,48.

L'usage des téléphones portables est interdit pendant toute la durée des épreuves. Les appareils doivent impérativement être éteints pendant les épreuves. Ils ne peuvent donc pas être utilisés comme chronomètre ou calculatrice. Aucune calculatrice n'est autorisée pendant toute la durée de l'épreuve. Les documents ne sont pas autorisés.

Cadre réservé au correcteur

Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Total

Numéro d'anonymat :

1- (2 points)

La transformation d'un substrat S en produit P ($S \rightarrow P$) est réalisée sans catalyseur (réaction A), ou en présence d'enzyme (réaction B). Comparez les deux réactions et complétez les phrases ci-dessous avec 1, 2 ou 3:

1. « plus grande que »
2. « égale à celle »
3. « plus petite que »

L'énergie d'activation nécessaire pour la réaction A est pour la réaction B.

L'enthalpie libre nécessaire pour la réaction A est pour la réaction B.

La vitesse de la réaction A est celle de la réaction B.

La constante d'équilibre de la réaction A est celle de la réaction B.

2- (1 point)

V_0 la vitesse initiale de la réaction B, et [S] est la concentration en substrat.

K_m est la constante de Michaelis et V_{max} la vitesse initiale maximale de la réaction B.

Donnez l'équation permettant de déterminer V_0 en fonction de [S] et de V_{max} :

3- (1 point)

Complétez les phrases suivantes en choisissant la réponse dans la liste ci-dessous :

1. n'affecte que K_m , qui diminue.
2. n'affecte que K_m , qui augmente.
3. n'affecte que V_{max} , qui diminue.
4. n'affecte que V_{max} , qui augmente.

Un inhibiteur compétitif ...

Un inhibiteur non compétitif ...

4-Dessiner une paire de bases A-T sans représenter les désoxyriboses et les phosphates. Vous indiquerez la numérotation des atomes, la position des liaisons N-glycosidiques et les liaisons H impliquées dans la formation de cette paire de bases. Vous mentionnerez aussi les atomes localisés dans le grand sillon et potentiellement donneurs (d) ou accepteurs (a) dans des liaisons H (4 points).

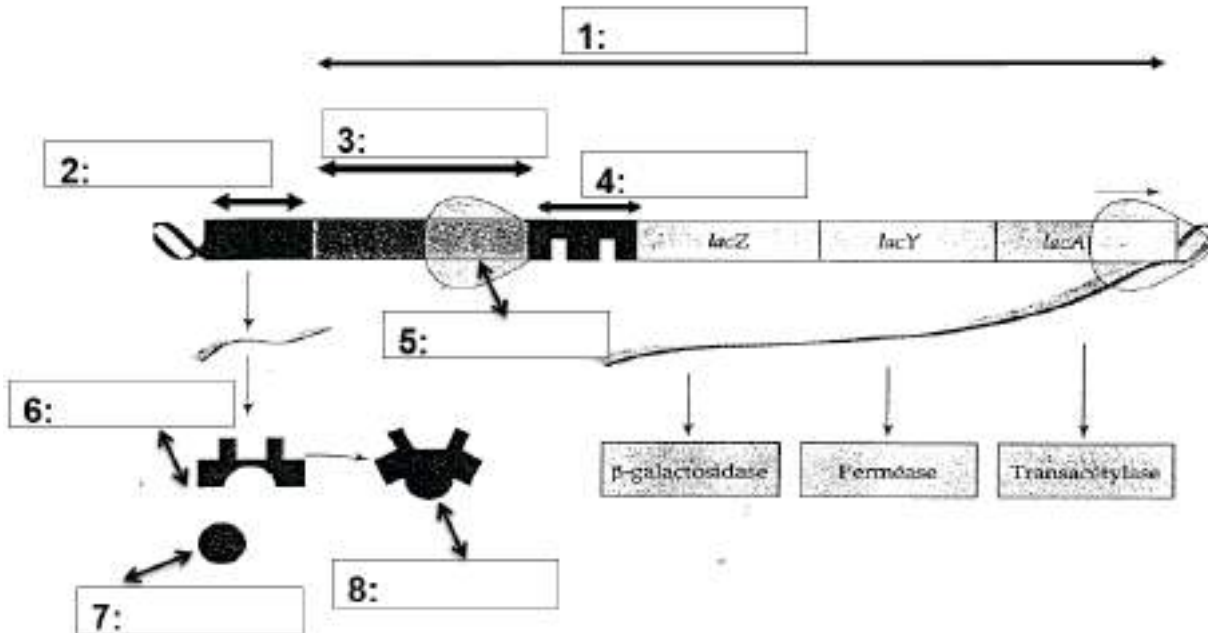
5- Les données ci-dessous indiquent les proportions en acides gras présents dans les lipides de préparations de membranes isolées d'une même souche bactérienne cultivée à 4 températures différentes : 22°C, 25°C, 32°C et 37°C.

	% C14 :0	% C16 :0	% C16 :1	% insaturé
32°C	15	60	24	25
22°C	4	47	47	49
25°C	9	59	30	32
37°C	19	65	16	16

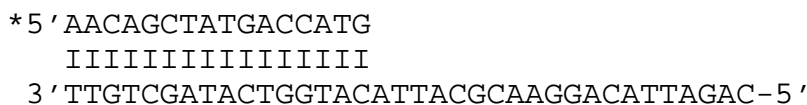
Analyser les données présentées. Quelle conclusion pouvez vous tirer sur le mécanisme mis en jeu et sur son but. Quel est le nom de ce mécanisme. Quelle stratégie utilise les mammifères pour obtenir ce type de régulation ? **Justifier vos réponses.**

Numéro d'anonymat :

6-De nombreuses molécules sont impliquées dans le contrôle de l'expression des opérons bactériens. Dans le schéma ci-dessous, nommez les différents éléments indiqués par une double flèche. A quelle situation correspond le schéma présenté. **Justifier votre réponse** (4 points).



7- Le fragment d'ADN ci-dessous est utilisé dans des réactions de séquençage par la méthode de Sanger. L'astérisque indique la présence d'un composé fluorescent fixé en 5' de l'amorce. L'amorce constituée de 16 nucléotides est hybridée à la partie 3' du brin d'ADN et l'hybride est indiqué par des barres verticales.



Les réactions de séquençage (réaction 1 à 4) sont réalisées dans une solution tampon appropriée en présence d'ADN polymérase et de l'un des mélanges suivant.

Réaction 1. dATP, dTTP, dCTP, dGTP, ddTTP Réaction 2. dATP, dTTP, dCTP, dGTP, ddGTP

Réaction 3. dATP, dTTP, dCTP, dGTP Réaction 4. dTTP, dCTP, dGTP, ddATP

Les didésoxynucléotides triphosphates sont ajoutées en quantité beaucoup plus faible que les désoxyynucléotides triphosphates. Les produits de la réaction sont séparés par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide dénaturant puis les composés fluorescents sont localisés sur le gel. Le profil obtenu pour la réaction 1 est représenté dans le schéma ci dessous. Représenter sur le même schéma les profils obtenus avec les réactions 2 à 4. **Justifier vos réponses** (4 points).

